

Aus dem Institut für Mikrobiologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Versuche zur Steigerung der Infektionsresistenz der weißen
Maus gegen die orale *S. typhimurium*-Infektion durch
Vorbehandlung mit verschiedenen *Y. enterocolitica*-
und *E. coli*-Stämmen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ulrich Wohlfarth
Tierarzt aus Stuttgart

Berlin 1983
Journal Nr. 1137



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Druck:
Kopie Print
Unter den Eichen 57
1000 Berlin 45 - Lichterfelde-W.
Telefon 030/8 31 24 82

Aus dem Institut für Mikrobiologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Versuche zur Steigerung der Infektionsresistenz der weißen
Maus gegen die orale *S. typhimurium*-Infektion durch
Vorbehandlung mit verschiedenen *Y. enterocolitica*-
und *E. coli*-Stämmen

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ulrich Wohlfarth
Tierarzt aus Stuttgart

Berlin 1983
Journal Nr. 1137

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Fachbereichssprecher:	Prof. Dr. F. Hörchner
Referent:	Prof. Dr. E. Hellmann
Korreferent:	Prof. Dr. G. Monreal

Tag der Promotion:

11. Juli 1983

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. EINLEITUNG	7
B. SCHRIFTTUM	9
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	16
1. Materialien	16
1.1. Bakterienstämme	16
1.1.1. Unspezifische Immunisierung	16
1.1.2. Belastungsinfektion	16
1.2. Nährmedien	17
1.3. Verdünnungsmedien	17
1.4. Seren	18
1.5. Versuchstiere	18
2. Methoden	19
2.1. Haltung der Versuchstiere und Zusammen- stellung der Versuchsgruppen	19
2.2. Haltung der Bakterienstämme	19
2.3. Herstellung der Impfsuspensionen	19
2.3.1. E. coli E 68 K 88	19
2.3.2. E. coli K 12	20
2.3.3. Y. enterocolitica 10750	21
2.3.4. E. coli O 138 : K 81 : K 88 und E. coli O 138 : K 81	21
2.3.5. Y. enterocolitica 54-2B	21
2.4. Herstellung der Infektionsdosen	22
2.5. Applikation der Impf- beziehungsweise Infektionsdosis	23
2.6. Bakteriologische Untersuchung infi- zierter Tiere	24
3. Versuchsaufbau	26
3.1. Vorbehandlung	26
3.1.1. Zeitlicher Ablauf	26
3.1.2. Stammauswahl und Dosierung	26
3.2. Belastungsinfektion mit S. typhimurium	29
3.2.1. Zeitlicher Ablauf	29
3.2.2. Dosierung	29
3.3. Überprüfung des Immunisierungserfolges	30

	Seite
4. Ergebnisse	31
4.1. Orale Infektion mit <i>S. typhimurium</i>	31
4.1.1. Intragastrale Infektion mit <i>S. typhimurium</i> -Stamm DICKEL	31
4.1.2. Intragastrale Infektion mit <i>S. typhimurium</i> -Stamm LT 2	34
4.1.3. Infektion über das Trinkwasser mit <i>S. typhimurium</i> -Stamm DICKEL	36
4.2. Ergebnisse der unspezifischen Immunisierung gegen eine Belastungsinfektion mit <i>S. typhimurium</i>	38
4.2.1. Orale Vorbehandlung mit den Stämmen <i>E. coli</i> E 68, <i>E. coli</i> K 12 und <i>Y. enterocolitica</i> 10750 mittels Knopfkanüle	38
4.2.1.1. Versuchsablauf und Übersichtsschema	38
4.2.1.2. Wirkung der Infektion mit 10^9 und 10^{10} Salmonellen pro Maus auf nicht vorbehandelte Mäuse	41
4.2.1.3. Wirkung einer zweimaligen Vorbehandlung auf eine Infektion mit 10^9 Salmonellen pro Maus (Versuche Nr. 1 und 4)	45
4.2.1.4. Wirkung einer zweimaligen Vorbehandlung auf eine Infektion mit 10^{10} Salmonellen pro Maus (Versuche Nr. 2 und 5)	49
4.2.1.5. Wirkung einer viermaligen Vorbehandlung auf eine Infektion mit 10^9 Salmonellen pro Maus (Versuch Nr. 3)	53
4.2.1.6. Vergleich der Wirkung der zweimaligen mit der viermaligen Vorbehandlung	55
4.2.1.7. Übersicht über die Gesamtinfektionsraten nach Belastung mit 10^9 und 10^{10} Salmonellen pro Maus	56
4.2.1.8. <i>Salmonella</i> -Nachweis in der Milz und Bewertung des Infektionsgrades anhand der Organkeimzahl	58
4.2.1.9. Milzgewichte in den Versuchen Nr. 1 - 5	62
4.2.1.10. <i>Salmonella</i> -Nachweis im Darm	63
4.2.2. Vorbehandlung und Belastungsinfektion über die Tränke	67
4.2.2.1. Versuchsablauf	67
4.2.2.2. Ergebnisse der <i>Salmonella</i> -Infektion bei nicht vorbehandelten Tieren	67
4.2.2.3. Ergebnisse der <i>Salmonella</i> -Infektion bei vorbehandelten Tieren	69

4.2.2.4. Salmonella-Nachweis in der Milz und Bewertung des Infektionsgrades	71
4.2.2.5. Milzgewichte	74
4.2.2.6. Salmonella-Nachweis im Darm; Infektion des Dünndarmes und des Rektums	76
4.2.3. Synopse	78
D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	81
E. ZUSAMMENFASSUNG	96
F. SUMMARY	97
G. LITERATURVERZEICHNIS	98

A. EINLEITUNG

In der Tiermedizin sind klinisch manifeste Salmonella- Infektionen besonders als Jungtiererkrankungen von Bedeutung (DRXGER, 1971; KIUPEL u. Mitarb., 1979). So stellt die Salmonella-Infektion zum Beispiel in Kälber- und Geflügelmastbetrieben, in denen es durch moderne Haltungsformen zu massiven Tieransammlungen auf engem Raum kommt, ein ernstes Problem dar.

Neben einer Gefährdung des Menschen durch neue Infektionsquellen treten wirtschaftliche Einbußen durch Tierverluste und erforderliche seuchenhygienische Maßnahmen auf (NURMI u. RANTALA, 1973).

Durch Chemotherapie gelingt die restlose Eliminierung der Erreger oft nicht, so daß latent infizierte Tiere dann zum Ausgangspunkt neuer Infektionen werden können. Auch muß nach Absetzen der Medikation eines Bestandes mit Reinfektionen gerechnet werden (DICKEL, 1976; SEUNA u. Mitarb., 1980).

Da therapeutische Maßnahmen letztlich unbefriedigende Ergebnisse nach sich ziehen, wird seit einiger Zeit nach immunologischen Methoden zur Bekämpfung der Salmonellose gesucht. Dabei bemüht man sich um die Entwicklung immunologischer Verfahren zur Infektionsprophylaxe wie auch zur Sanierung infizierter Bestände.

Bei der Salmonellose ist der Magen-Darm-Trakt in der Regel die Haupteintrittspforte und der primäre Ort der Auseinandersetzung des Wirtes mit dem infektiösen Agens. Immunvorgänge, die sich hier abspielen, finden deshalb zunehmende Beachtung. Es wird versucht, durch orale Immunisierungsmaßnahmen eine lokale Immunität im Bereich des Magen-Darm-Traktes zu erzeugen. Der Wirt soll in seinen lokalen Abwehrmaßnahmen so unterstützt werden, daß ein Angehen der Infektion möglichst verhindert wird. Daneben ist Ziel oraler Immunisierungsmaß-

nahmen auch die Erzeugung einer generellen Immunität im gesamten Organismus (HOF u. FINGER, 1974).

Auf einen großen Vorteil der oralen Immunisierung macht RAETTIG (1976) aufmerksam: Die aufgrund oraler Immunisierung sich entwickelnden Abwehrkräfte werden nicht nur streng erregerspezifisch wirksam, sondern vermitteln auch einen unspezifischen, auf andere Keimarten übergreifenden Schutz, sofern eine nachfolgende Belastungsinfektion auch oral gesetzt wird (RAETTIG, 1979).

KIRCHNER (1982) beobachtet nach oraler Gabe lebender den Anheftungsfaktor K 88 tragender *E. coli*-Keime bei Mäusen einen hohen Grad an Schutz gegen eine nachfolgende *Salmonella*-Infektion.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, in Anlehnung an die Versuche von RAETTIG und KIRCHNER zu überprüfen, ob durch orale Gabe verschiedener lebender Enterobacteriaceen beim Versuchstier "weiße Maus" eine nachfolgende *Salmonella*-Infektion verhindert, oder der Infektionsverlauf modifiziert werden kann.

Durch Verwendung von Anheftungsfaktoren tragenden *E. coli*-Stämmen neben Stämmen, die keine Anheftungsfaktoren bilden, sollen Hinweise erlangt werden, ob die Fähigkeit zur Anheftung und Kolonisierung eventuell darüber entscheidet, ob ein Schutz gegen eine Infektion mit *S. typhimurium* induziert wird.

Als weitere Enterobacteriaceen werden zwei Stämme von *Y. enterocolitica* auf ihre Schutzwirkung gegen eine *Salmonella*-Belastungs-Infektion überprüft. Besondere Bedeutung wird der Frage der Infektionshaftung beziehungsweise der Verhinderung derselben zugemessen. Um außerdem die Schwere einer Infektion abschätzen zu können, wird die Keimzahl in der Milz bestimmt.

B. SCHRIFTTUM

Versuche zur Prophylaxe infektiöser Erkrankungen mit Hilfe von nicht-erregerspezifischen Antigenen finden derzeit in zwei Bereichen statt. Zum einen handelt es sich um die von MAYR (1977; 1980; 1982) mit dem Begriff "Paramunisierung" belegte vorbeugende Behandlung eines ätiologisch multifaktoriellen Krankheitsgeschehens, das sich vornehmlich in den oberen Luftwegen und der Lunge abspielt und nach der Zusammenführung vieler Tiere aus unterschiedlichen Beständen zum Zwecke der Jungtiermast auftreten kann. Das als "Crowding Disease" bezeichnete Krankheitssyndrom ergibt sich aus der Summierung mehrerer Faktoren: Im Vordergrund steht die Tatsache des Zusammentreffens von Tieren aus verschiedenen Beständen mit einem unterschiedlichen Keimspektrum und dementsprechend unterschiedlichen Immunstatus. Der Schutz gegenüber den in dem neuen Bestand vorhandenen Mikroorganismen ist lückenhaft. Dazu kommt durch Transporte und Futterumstellung hervorgerufene Immundepression sowie die Massierung vergleichsweise großer Tierzahlen mit der Möglichkeit ausge dehnter Erregerpassagen. Das zur Verhütung von Krankheitsausbrüchen in diesen Situationen empfohlene Verfahren besteht in dem Versuch einer Anregung der erregerspezifischen Abwehrmechanismen, was durch die lokale, sich besonders auf die Schleimhäute des Respirations- und Digestionstraktes erstreckende Behandlung der Tiere mit nichtpathogenen lebenden oder inaktivierten Mikroorganismen erreicht werden soll.

MAYR (1977) verweist darauf, daß viele Schutzimpfungen neben ihren spezifischen auch paraspezifische Wirkungen haben. Dabei erwähnt er zum Beispiel Pocken, Influenza, Brucellen und E. coli (MAYR, 1979a). Aufgrund der Erfahrungen mit der paraspezifischen Wirkung von Pockenschutzimpfungen entwickelte MAYR aus einem inaktivierten Avipoxvirus einen "Paramunitäts-inducer", der sich gegen viele bakterielle und virale Infektionskrankheiten als wirksam erwies (MAYR, 1979a u. b).

Den erworbenen, nicht-erreger- und nicht-antigenspezifischen Schutz eines Individuums gegen Infektionserreger bezeichnet MAYR mit dem Begriff "Paramunität". Medikamente, die zum Zweck der Paramunisierung verabreicht werden, werden entsprechend als "Paramunitätsinducer" bezeichnet (MAYR, 1977; 1979a u. b; 1982).

Über den Praxiseinsatz eines solchen Paramunitätsinducers gegen "Crowding Disease" und andere Faktorenkrankheiten berichtet MAYR (1977; 1979b).

Als funktionelle Grundlagen der Paramunität werden erwähnt (MAYR, 1982):

1. Die Steigerung der Mikro- und Makrophagentätigkeit.
2. Die Stimulierung noch nicht antigenspezifisierter Lymphozyten.
3. Interaktionen mit der spontanen zellvermittelten Cytotoxizität (natural killer cells).
4. Induktion der Interferonproduktion.
5. Steigerung der Lysozymproduktion.
6. Aktivierung humoraler nicht-erregerspezifischer Abwehrfaktoren, wie zum Beispiel des Komplement-Propertin-Systems.
7. Freisetzung von Lymphokinen und anderen Mediatoren.

Die paraspezifische Wirkung von Schutzimpfungen ist nach MAYR (1982) bei Verwendung von vermehrungsfähigen Erregern am stärksten, wobei die lokale Verabreichung vor allem oral und nasal paraspezifisch besser zu wirken scheint, als die parenterale.

Der andere Schwerpunkt betrifft die Verhütung bakterieller Darmerkrankungen, insbesondere die Prophylaxe der Salmonella-Infektionen. Auch hier geht es vorwiegend um die möglichst verlustfreie Aufzucht von Jungtieren, namentlich der landwirtschaftlichen Nutztiere. Darüber hinaus sind aber auch die durch verschiedene Enterobacteriaceen-Spezies verursachten Darminfektionen des Menschen Gegenstand des Interesses, deren Verhütung durch heterologe, orale Antigenapplikationen am Studienobjekt "weiße Maus" versucht wurde.

Umfangreiche Untersuchungen wurden vorgenommen zur Bekämpfung der Salmonella-Infektion durch Substitution der Darmflora beim frisch geschlüpften Mastküken. Die starke Gefährdung von Mastküken durch Salmonella-Infektion rührt von den besonderen Aufzuchtbedingungen dieser Tiere her. Sie werden nach dem Schlüpfen isoliert von älteren Tieren unter besonders hygienischen Verhältnissen gehalten. Das Umgebungskeimmilieu ist nicht wie unter natürlichen Bedingungen von der mütterlichen Keimflora geprägt, und die Bakterienübertragung von der Henne zum Küken ist unterbrochen (NURMI u. RANTALA, 1973; NURMI u. SCHNEITZ, 1982). So erwerben die frisch geschlüpften Küken erst nach einiger Zeit eine Darmflora, die sie direkt und/oder indirekt über die Stimulierung von Immunitätsmechanismen vor Infektionen zu schützen vermag.

NURMI und RANTALA (1973) berichten, daß Küken durch die Verabreichung von Darmflora erwachsener Hühner gegen orale Salmonella-Infektionen geschützt werden können. Dabei wurde Kropf- und Darminhalt erwachsener Hühner in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und den Küken in den Kropf verabreicht. Die Bebrütung von Dünndarm- oder Cäcuminhalt soll nach RANTALA (1974) unter anaeroben Bedingungen erfolgen, da aerobe Passagen den beobachteten Hemmeffekt der Darmflora und damit die Schutzwirkung zunichte machen.

SEUNA (1979) beobachtete bei Küken eine Schutzwirkung gegen *S. infantis* bereits 1 Stunde nach Verabreichung einer anaeroben Kultur von Cäcalflora erwachsener Hühner. Der Grad der durch die Keimbehandlung beim Eintagsküken erzielten Resistenz entspricht fast dem, der bei 2 Wochen alten Küken beobachtet wird. Dieser Zeitraum der ersten 2 Lebenswochen fällt zusammen mit jenem, in dem die anfangs aerobe Flora in Dünndarm und Cäcum durch anaerobe Keime ersetzt wird. Die Annahme, daß durch Gabe von Bakterienkulturen an frisch geschlüpfte Küken eine Resistenzsteigerung zu erzielen sei, die der erwachsener Hühner entspricht, hält SEUNA für unrealistisch. Der durch die Anaerobierkultur vermittelte Schutz kann durch hohe Dosen an Salmonellen durchbrochen werden (SEUNA, 1981).

Angaben zur Zusammensetzung der schützenden Anaerobierkultur finden sich bei SCHNEITZ und Mitarb. (1981). Die Kultur enthielt 10^8 Keime pro ml; darunter waren obligate Anaerobier, fakultativ anaerobe und aerobe Keime. Am zahlreichsten vertreten waren *E. coli*, verschiedene Laktobazillen und fäkale Streptokokken; unter den isolierten Anaerobiern waren zum Beispiel Eubakteria, Propionibakteria und Bakteroides. Über eine ähnliche Zusammensetzung von gegen Salmonella schützenden Suspensionen aus Cäcalmaterial berichteten BARNES und Mitarb. (1980). Dieselben Autoren stellten fest, daß nach Gabe von Laktobazillen alleine, oder bei Kombination mit jeweils zwei anderen Bakterien, die Infektion mit Salmonella sogar heftiger ausgeprägt sein konnte als bei den Kontrollen. Die schwersten Infektionen hatten die Gruppen, aus deren Kropf und Cäcum sämtliche coliformen Keime durch die Vorbehandlung mit den "schützenden" Kulturen eliminiert worden waren. BARNES und Mitarb. weisen darauf hin, daß auf Salmonella inhibitorisch wirkende Keime auch andere Bakterien hemmen können und unter Umständen die ökologische Balance im Darm so empfindlich stören, daß die Empfänglichkeit für Salmonellen sogar zunimmt.

Über die Verwendung von abgetöteten Bakterien zur oralen Immunisierung berichtet RAETTIG (1971; 1976; 1979), der hierzu zahlreiche Untersuchungen an Mäusen durchgeführt hat.

Dabei stellte RAETTIG fest, daß die aufgrund oraler Immunisierung sich entwickelnden Abwehrkräfte des Wirtes einen unspezifischen Schutz vermitteln können, der auch gegen orale Infektion mit anderen als den immunisierenden Keimarten wirksam wird (RAETTIG, 1979). Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen von JANDL (1965), der bei der Überprüfung von *S. anatum*- und *E. coli*-Oral-Impfstoffen eine lokale unspezifische Darmimmunität gegen *S. enteritidis* Infektion feststellte: Erfolgte die Belastungsinfektion mit *S. enteritidis* auf oralem Weg, so war eine Schutzwirkung vorhanden, nicht aber bei parenteraler Belastung.

Bei der Überprüfung von oralen Kombinationsimpfstoffen stellen RAETTIG und MARQUARDSEN (1970) fest, daß die Schutzwirkung der Mehrfachvakzine gegenüber der der monovalenten spezifischen Vakzine unerwartet wenig absinkt, obwohl der Anteil der spezifischen Komponente in den Mischimpfstoffen geringer ist. Die Kombinationsimpfstoffe schützten stets besser, als nach ihrem Anteil an spezifischem Antigen zu erwarten war. Als Vakzinen kamen in diesen Versuchen zur Anwendung: Ein Zweifachimpfstoff aus einem *E. coli*-Stamm und einer *Salmonella*-Spezies, ein Dreifachimpfstoff aus einem *E. coli*-Stamm, einem *Shigella*-Stamm und einer *Salmonella*-Spezies und ein Fünffachimpfstoff aus 3 *Salmonella*-Spezies sowie einem *E. coli*- und einem *Shigella*-Stamm. Der Impfstoff wurde in Form einer hitzeinaktivierten Bakteriensuspension an 10 aufeinanderfolgenden Tagen mit einer Schlundsonde verabreicht. Die Immunitätsbelastung erfolgte durch intraperitoneale Infektion mit einem für die Immunisierung benutzten Stamm. Anhand der Mortalität innerhalb einer bestimmten Versuchsdauer wurde die Impfwirkung gemessen.

Als Mechanismen der paraspezifischen synergistischen Wirkung der Kombinationsimpfstoffe diskutieren RAETTIG und MARQUARDSEN zwei Wirkungsweisen: Einmal könnte ein hitzebeständiges, vielen Enterobacteriaceen gemeinsames Antigen hier wirksam werden; zum anderen wird ein völlig unspezifischer Wirkungsmechanismus im Sinne eines Adjuvanseffektes der heterologen Antigen-Anteile erwogen. Selbst bei Verwendung von polyvalenten Oralimpfstoffen aus 12 oder 16 verschiedenen Stämmen wird die unspezifische Wirkung kombinierter oral gegebener Antigene nachweisbar (RAETTIG, 1979; RAETTIG, 1981).

Obwohl die Kombinationsimpfstoffe nur noch 1/12 beziehungsweise 1/16 des homologen Antigens aufweisen, liegt ihre Schutzwirkung unerwartet hoch, in einigen Fällen sogar über der nach monovalenter spezifischer Impfung.

Wie bereits erwähnt, kann durch orale Immunisierung ein breiter, nicht spezifischer Schutz auch gegen heterologe Keime vermittelt werden (HOF u. Mitarb., 1976; JANDL, 1965; RAETTIG, 1965a u. b). RAETTIG (1979) bestätigt diese unspezifische Wirkung, weist aber darauf hin, daß dies nur für die Modelle Gültigkeit hat, in denen auch die Belastungsinfektion oral erfolgt. Er verwendete für die orale Infektion Stämme von *S. typhimurium* und *S. enteritidis* sowie ein Columbia SK Virus. Die vorherige Immunisierung wurde oral mit den Infektionsstämmen sowie *S. schwarzengrund*, *S. newport* und einem inaktivierten Polioimpfstoff durchgeführt. Dabei konnte in allen Fällen eine Schutzwirkung der oralen Immunisierung beobachtet werden. Sie erreicht zum Teil fast den Wirkungsindex der spezifischen Immunisierung.

Als Grundlagen der beobachteten paraspezifischen Wirkungen von Oralimpfstoffen erwägt RAETTIG zum einen, wie bereits erwähnt, ein vielen Enterobacteriaceen gemeinsames Antigen, das hier wirksam werden könnte. Für einen wesentlichen Faktor hält er zum anderen die Steigerung der Phagozytoseaktivität

der Peritonealmakrophagen, die durch orale Immunisierung induziert werden kann (SCHULZE, 1972; SCHULZE u. Mitarb., 1973; RAETTIG, 1975; SCHMIDT, 1977). Des weiteren erwähnt RAETTIG eine durch die Vorbehandlung mögliche Induktion der Interferonproduktion und eine Aktivierung des Komplement-Propertin-Systems. Die letzteren Mechanismen kämen besonders für die beachtliche Schutzwirkung in Frage, die der *S. typhimurium*-Impfstoff gegen die Infektion mit dem Columbia-SK-Virus vermittelte.

Einen deutlichen Grad an Schutz vor *Salmonella*-Infektion beobachtet KIRCHNER (1982) an Mäusen, die vor der Infektion mit *S. typhimurium* oral lebende *E. coli* mit dem Anheftungs-faktor K 88 erhalten hatten. Zur Erklärung der Schutzwirkung zieht KIRCHNER neben einem möglichen bakteriellen Antagonismus hauptsächlich die Steigerung der Mikro- und Makrophagen-tätigkeit heran, worin ihn die hohe Zahl neutrophiler Granulozyten in der Darmwand der mit *E. coli* behandelten Tiere bestärkt.

ASCHENBRENNER (1982) führte unter anderem eine kombinierte orale Vorbehandlung von Mäusen mit *S. minnesota*-Rauhmutanten und K 88 tragenden *E. coli* durch. Bei Überprüfung der Leistungsfähigkeit dieser "Impfkombination" mittels oraler Infektion mit *S. minnesota* konnte keine deutliche Schutzwirkung festgestellt werden.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Materialien

1.1. Bakterienstämme

1.1.1. Unspezifische Immunisierung

E. coli E 68; O 141 : K 88 ab : H 4, (E 68) (1)

E. coli K 12, (K 12); eine laktose-negative Rauhform ohne (2)
K₈₈

E. coli O 138 : K 81 : K 88 ac und E. coli O 138 : K 81, (3)
(K 88+ und K 88-)

Y. enterocolitica 10750 0 : 3, (Y 1) (4)

Y. enterocolitica 54-2B, 0 : 3, (Y 2) (2)

1.1.2. Belastungsinfektion

S. typhimurium (0 1,4,5,12 : H i, 1,2) (5)

S. typhimurium LT 2 Nr. 1546 (6)

- (1) überlassen von Herrn F. Ørskov, Staatens Seruminstitut, Copenhagen, Dänemark
- (2) aus der Stammsammlung des Institutes für Mikrobiologie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin
- (3) überlassen von P.A.M. Guinée, Rijksinstitut voor de Volksgezondheid, Bilthoven, Niederlande
- (4) überlassen von Herrn Prof. Dr. J. Bockemühl, Hygienisches Institut, Hamburg
- (5) überlassen von Herrn Vet. Dir. Dr. H. Dickel, Staatliches Veterinäruntersuchungsamt, Oldenburg
- (6) aus dem Max Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg

1.2. Nährmedien

- Standard-I-Nähragar (1)
- Lackmus-Laktose-Agar (2)
- Hammel-Blut-Agar (Nähragar - Oxoid, Hammel aus eigener Haltung) (2)
- Yersinia-Selektiv-Agar nach WAUTERS (1)
- Tryptic Soy Yeast Extract Agar (TSYE-Agar): (3)
 - Tryptic Soy Agar 40,0
 - Yeast Extract 6,0
 - Agar Noble 1,5
 - Aqua dest ad 1000,0
 - pH 7,2
- Nährbouillon (1)
- Tryptic Soy-Bouillon (TSB) (3)
- Selenit-Bouillon = Selenit Brillantgrün-Mannit Anreicherungsbouillon (SBM-Bouillon) (1)
- Tetrathionat-Bouillon = Tetrathionat Brillantgrün Galle-Anreicherungsbouillon (TBG-Bouillon) (1)

1.3. Verdünnungsmedien

- Physiologische Kochsalzlösung
- Pepton-NaCl-Lösung (physiologische Kochsalzlösung mit 0,1 % Bacto Pepton) (3)
- Pepton-H₂O (steriles Leitungswasser mit 0,1 % Bacto Pepton) (3)

(1) Merck, Darmstadt

(2) Oxoid, Wesel

(3) Difco Laboratories, Detroit, USA

1.4. Seren

Salmonella-Testseren:	(4)
Polyvalent I und	
Anti-O 4,5	
E. coli-Antiserum, E. coli O 138 K : 81	(3)
E. coli K 12 Antiserum von Kaninchen	(5)
Yersinia O : 3 Antiserum von Kaninchen	(5)

1.5. Versuchstiere

Weibliche und männliche NMRI-Mäuse (Naval Medical Research Institute) aus eigener Zucht; Gewicht zu Versuchsbeginn 18 - 20 g; Alter ca. 4 - 5 Wochen.

- (3) Difco Laboratories, Detroit, USA
- (4) Behringwerke, Marburg/Lahn
- (5) aus eigener Herstellung

2. Methoden

2.1. Haltung der Versuchstiere und Zusammenstellung der Versuchsgruppen

Die Mäuse waren in Gruppen zu 10 Tieren in Makrolon^R-Käfigen (Größe 3) untergebracht. Die Sägemehleinstreuung wurde zweimal pro Woche gewechselt. Wasser und Altromin^R-Trockenfutter stand den Mäusen ad lib. zur Verfügung (Altromin-Standard-Diät, Ratten-Mäuse). Zu Versuchsbeginn wurden 18 - 20 g schwere Tiere mittels Los und nach Geschlechtern getrennt in die einzelnen Versuchsgruppen eingeteilt. Es wurden weibliche und männliche Versuchstiere zu etwa gleichen Teilen verwendet.

2.2. Haltung der Bakterienstämme

Die Stämme wurden in TSB-Bouillon unter Zusatz von 5 % Glycerin bei -20° C und auf TSYE-Hochschichtagar bei +4° C aufbewahrt. Subkulturen wurden jeweils auf Agar, Lackmus-Laktose- und Hammelblut-Agar angelegt. Zur Identitätskontrolle wurden die Stämme kulturell, biochemisch und, soweit möglich, serologisch überprüft. Die serologische Identifizierung erfolgte mit den unter 1.4. angegebenen Antiseren durch Objektträgerschnellagglutination. Die beiden *E. coli*-Stämme mit der Antigenformel O 138 : K 81 sind leicht voneinander zu unterscheiden durch das Hämolysevermögen des die K 88-Anheftungsfaktoren ausbildenden Stammes. Auch der *E. coli*-Stamm E 68 zeichnet sich durch typisches Hämolysevermögen aus.

2.3. Herstellung der Impfsuspensionen

2.3.1. *E. coli* E 68 K 88

Ausgehend von der Hochschichtagarkultur wurden jeweils Lackmus-Laktose- und Hammel-Blut-Agar beimpft. Mit mehreren

Kolonien von der Blutplatte wurde dann Nährbouillon beimpft und 24 Stunden lang bei 37° C bebrütet. Die endgültige Anzucht der zur Impfung benutzten Keime erfolgte wiederum in Nährbouillon, die über 24 Stunden bei 37° C mit 110 Umdrehungen pro Minute (U/min) geschüttelt wurde. Es wurden 300 ml-Erlenmeyerkolben mit Gazestopfen verwendet, die jeweils 150 ml Nährbouillon enthielten. Durch anschließendes 20-minütiges Zentrifugieren ⁽¹⁾ (Christ-Zentrifuge UJ 2) bei 5000 U/min konnten die Keime als Bodensatz geerntet werden. Der Bodensatz wurde durch intensives Aufrühren mittels Pipette und unter Zugabe von 1 ml Pepton-NaCl aufgenommen. Dieses Konzentrat wurde im Reagenzglas so lange geschüttelt, bis eine homogene Keimsuspension erreicht war. Von dieser Suspension wurde dann eine entsprechende Menge mit Pepton-NaCl im Verhältnis 1:20 verdünnt. Eine Keimzahlbestimmung wurde mittels Koch'schen Plattenverfahrens beziehungsweise Spiralgerät (Laméris Spiral System) durchgeführt. Danach waren in 1 ml Suspension 5×10^9 lebende Keime zu erwarten. Jedes Tier erhielt 0,2 ml dieser Suspension per os und somit eine Dosis von 1×10^9 Keimen.

2.3.2. E. coli K 12

Die Anzucht und Vermehrung wurde, wie für E. coli E 68 beschrieben, durchgeführt. Zentrifugation und Ernte des Bodensatzes erfolgte unter Zugabe von nur 0,5 ml Pepton-NaCl. Durch Verdünnung im Verhältnis 1:8 wurde die Impfsuspension auf die Dichte von 5×10^{10} Keimen pro ml eingestellt. Bei einer oralen Gabe von 0,2 ml der Impfsuspension pro Maus erhielt jedes Tier 1×10^{10} Keime.

(1) Christ, Osterode/Harz

2.3.3. *Y. enterocolitica* 10750

Vorkultur in Nährbouillon und endgültige Anzüchtung der Impfsuspensionen erfolgte im Unterschied zur oben angegebenen Vorgehensweise bei 22° C. Der Bodensatz wurde unter Zugabe von 0,5 ml Pepton-NaCl geerntet und dann 1:8 verdünnt. Pro Maus wurden wiederum 0,2 ml per os verabreicht. Dies entsprach 1×10^{10} Keimen.

2.3.4. *E. coli* O 138 : K 81 : K 88 und *E. coli* O 138 : K 81

Ausgehend von Subkulturen der bei -20° C aufbewahrten Stämme wurden die Keime in Tryptic-Soy-Bouillon (TSB) bei 37° C über 24 Stunden bebrütet. Hieraus wurde dann eine weitere Vorkultur in TSB durchgeführt, bevor die endgültige Anzüchtung der Impfpopulation in dem gleichen Medium erfolgte (24 Std., 37° C). Nach Zentrifugation und Ernte der Keime wurde die so gewonnene Keimsuspension durch Zugabe von Pepton-NaCl auf die Dichte der Extinktion 0,5 eingestellt (Wellenlänge 660 nm) ⁽¹⁾ (Beckman Spectrophotometer, Modell 24). Diese Dichte entsprach der Konzentration von $1,5 \times 10^8$ *E. coli* pro ml. Durch Verdünnung der Suspension mit sterilem Pepton-H₂O im Verhältnis 1:10 wurde die Gebrauchssuspension hergestellt. Nach Abnahme einer Probe für die Keimzählung erhielten die Mäuse dann diese Suspension mit $1,5 \times 10^7$ Keimen pro ml über ihre Tränkeflaschen.

2.3.5. *Y. enterocolitica* 54-2B

Die Vorgehensweise beim Herstellen der Yersinia-Impfsuspension entsprach der unter 2.3.4. für *E. coli* angegebenen bis auf die Anzüchtungstemperatur und die Verdünnung zur Gebrauchssuspension. Inkubationstemperatur für *Y. enterocolitica* war 22° C. Die auf Extinktion 0,5 eingestellte Suspension enthielt 1×10^9 Yersinien pro ml (*Y. enterocolitica*/ml). Daher mußte im Verhältnis 1:100 weiter verdünnt werden, um

(1) Beckman Instruments, Fullerton, California, USA

eine Gebrauchssuspension der Dichte 1×10^7 *Y. enterocolitica* pro ml zu erhalten. Im Kulturverfahren wurde die Keimzahl überprüft.

2.4. Herstellung der Infektionsdosen

Anzüchtung und Zentrifugation der Salmonellen erfolgte in den Versuchen Nr. 1 - 5, wie für *E. coli* E 68 beschrieben. Das Zentrifugat wurde unter Zugabe von 1 ml Pepton-NaCl geerntet. Für die Belastungsinfektion in den Immunisierungsversuchen Nr. 2 und 5 wurde 1:3 weiterverdünnt. Hiervon erhielten die Mäuse 0,2 ml oral, welches 1×10^{10} lebenden Salmonellen entsprach. In den Immunisierungsversuchen Nr. 1, 3 und 4 wurde eine Belastungssuspension von 5×10^9 Keimen pro ml durch Verdünnung von 1:30 erreicht. Hiervon erhielt jede Maus 0,2 ml und somit 1×10^9 lebende Salmonellen.

Vor Verwendung von *S. typhimurium* als Belastungskeim in Versuch Nr. 6 wurden mit diesem Stamm drei intraperitoneale Mäusepassagen durchgeführt. Dies sollte die Virulenz des Stammes erhöhen. Die zur Infektion benutzten Keime wurden dann auf Agarplatten angezüchtet. Nach 24 Stunden Bebrütung wurden die Kolonien mit Pepton-NaCl abgeschwemmt, durch sterile Gaze filtriert und unter Zugabe von Pepton-NaCl auf Extinktion 0,5 eingestellt. Eine Suspension dieser Dichte enthielt $6 - 7 \times 10^8$ *S. typhimurium* pro ml. Zur Herstellung der Infektionssuspension mit 3×10^7 *S. typhimurium* pro ml wurde die auf Extinktion 0,5 eingestellte Salmonella-Suspension im Verhältnis 1:20 mit Wasser unter Zusatz von 0,1 % Pepton weiterverdünnt. Als Belastungsinfektion erhielten die Mäuse diese Salmonella-Suspension für 40 Stunden über ihre Tränkeflaschen verabreicht.

2.5. Applikation der Impf- beziehungsweise Infektionsdosis

Versuch Nr. 1 - 5

Zur oralen Gabe der Keimsuspensionen wurden in den Versuchen Nr. 1 - 5 Knopfkanülen mit kleiner Olive verwendet (Kanülenlänge: 51,8 mm). Diese wurden am harten Gaumen entlanggeführt und vorsichtig bis in den Magen beziehungsweise weit distal in den Ösophagus vorgeschoben. Dabei wurden die Mäuse in einer Hand gestreckt und mit leicht durchgebogenem Rücken gehalten. Um genaues Dosieren zu ermöglichen, wurden Tuberkulinspritzen verwendet.

Versuch Nr. 6

In diesem Versuch wurde die Vorbehandlung, wie auch die nachfolgende Belastungsinfektion, über das Trinkwasser durchgeführt. Das Vorgehen bei der Vorbehandlung war wie folgt: 6 Tage lang erhielten die Tiere den zur Impfung vorgesehenen Stamm über ihre Tränke. Die Keimsuspension wurde dabei täglich erneuert und es war dafür gesorgt, daß die Tränkeflaschen stets ausreichend gefüllt waren. Nach Beendigung der Vorbehandlung wurden die Mäuse in neue Käfige umgesetzt.

Der Ablauf der Belastungsinfektion ist dem für die Vorbehandlung beschriebenen im Prinzip gleich. Die Tiere bekamen für 40 Stunden über das Tränkegefäß eine Keimsuspension mit 3×10^7 S. typhimurium pro ml. Die Infektionssuspension wurde nach 20 Stunden erneuert. Nach Beendigung der Infektion wurden die Tiere in neue Käfige umgesetzt und erhielten dort Tränkeflaschen mit frischem Wasser.

2.6. Bakteriologische Untersuchung infizierter Tiere

Am 6. Tag nach Setzen der Belastungsinfektion beziehungsweise Beendigung der Infektion über das Trinkwasser wurden die Mäuse getötet und sezziert.

Versuch Nr. 1 - 5

Die Milz wurde entnommen und zunächst aus arbeitstechnischen Gründen bei -70°C eingefroren. Von der Leber wurde ein etwa bohnengroßes Stück grob zerkleinert in Selenit-Brillantgrün-Mannit-Anreicherungsmedium (SBM-Bouillon) verbracht. Vom distalen Dünndarm wurde ein etwa 4 cm langes Stück kurz vor dem Cäcum entnommen und aufgeschnitten. Es folgte ein Direktausstrich auf Lackmus-Laktose-Agar und Überführung des Dünndarmteils in Tetrathionat-Medium zur Anreicherung (TBG-Bouillon). Nach 24- und 48-stündigem Bebrüten bei 37°C wurden jeweils Ausstriche von den Anreicherungsmedien auf Lackmus-Laktose-Agar angefertigt. Die Milz wurde nach dem Auftauen gewogen ⁽¹⁾ (Waage: Mettler Ak 160) und im Mörser in 4 ml Pepton-NaCl homogenisiert (SZIEGOLEIT, 1976).

0,1 ml dieses Milzhomogenats wurde auf Lackmus-Laktose-Agar mittels eines Drigalski-Glasspatels zur Keimzählung ausgespatelt. 0,5 ml der Organsuspension wurde in 4,5 ml Pepton-NaCl überführt (Verdünnung 1:10) und bei 4°C aufbewahrt. Dadurch wurde sichergestellt, daß auf dem ersten Ausstrich nicht zählbare Keimmengen nach Verdünnung noch einmal ausgespatelt und dann gezählt werden konnten. Der Rest des Milzhomogenats wurde in Selenit-Anreicherungs-Bouillon verbracht. Auf den Ausstrichen gewachsene laktose-negative Kolonien wurden mit Hilfe der Objektträgeragglutination auf ihre Identität überprüft. Umformung der Rohwerte aus dem Versuch in die Keimzahl pro Milz (Milzkeimzahl):

$$(\text{Keimzahl pro } 0,1 \text{ ml Milzhomogenat}) \times 40 = \text{Milzkeimzahl}$$

(1) Mettler-Waagen GmbH, Gießen 2

Versuch Nr. 6

Wie in den Versuchen Nr. 1 - 5 wurden die Mäuse am 6. Tag nach Belastungsinfektion getötet und sezziert. Die Milz wurde steril entnommen und gewogen. Mit einer Schere wurde die Milz anschließend quer zum Hilus in drei gleich große Teile zerlegt. Dann wurden mit zwei der so entstandenen Schnittflächen (Milzquerschnitte) zwei jeweils 4 cm lange Ausstriche auf Lackmus-Laktose-Agarplatten angefertigt. Das gesamte Milzmaterial wurde anschließend mit der Schere grob zerkleinert in Selenit-Anreicherungsbouillon verbracht und 48 Stunden bei 37° C bebrütet. Nach 24 und 48 Stunden wurden Ausstriche auf Lackmus-Laktose-Agar angefertigt. Das Ausstreichen von Milzquerschnitten auf Lackmus-Laktose-Agar ermöglichte ein grobes Abschätzen der Schwere einer jeweiligen Milzinfektion. Anhand der Dichte des Wachstums von *S. typhimurium* auf den beiden Ausstrichen wurde eine Einteilung in 5 Infektionsgrade vorgenommen (vergleiche Tab. 17). Geringe Keimzahlen in der Milz wurden mit Hilfe der Selenit-Anreicherung erfaßt. Eine Untersuchung der Leber erfolgte nicht (vergleiche S. 30). Die Untersuchung des Dünndarms wurde, wie unter Versuch Nr. 1 - 5 beschrieben, vorgenommen. Zusätzlich wurde ein 2 cm langes Stück Rektum entnommen und analog zum Dünndarm untersucht. Dies sollte eine eingehendere Beurteilung des Infektionsgeschehens im Darm und ein besseres Erfassen von Salmonella-Ausscheidern ermöglichen.

3. Versuchsaufbau

3.1. Vorbehandlung

3.1.1. Zeitlicher Ablauf

In den Versuchen Nr. 1, 2, 4 und 5 wurde der jeweilige Impfstamm zweimal (2 x) im Abstand von 2 Tagen gegeben. In Versuch Nr. 3 wurde der Impfstamm 4 x in 5 Tagen verabreicht, wobei am 3. Tag keine Behandlung erfolgte. Durch zwei- und insbesondere eine viermalige Keimapplikation sollte eine möglichst intensive Stimulierung der lokalen, von der Darmschleimhaut aus wirksam werdenden Infektionsabwehrmechanismen erreicht werden.

In Versuch Nr. 6 wurde die Vorbehandlung wie auch die Belastungsinfektion über das Trinkwasser durchgeführt. Dabei mußten sich die Tiere 6 Tage lang mit den ihnen über die Tränke verabreichten Impfkkeimen auseinandersetzen. Durch die Keimapplikation über die Tränke sollte eine möglichst lange Zeit andauernde Keimeinwirkung auf den Darm möglich werden, ohne daß die Tiere immer wieder forcierten Manipulationen wie Einfangen, Fixieren und Einführen der Knopfkanüle ausgesetzt wurden, von denen sicher eine starke Stresswirkung auf die Tiere ausging.

3.1.2. Stammauswahl und Dosierung

Versuche Nr. 1 - 5

E. coli E 68 K 88 wurde ausgewählt, um die von KIRCHNER (1982) beobachtete Schutzwirkung gegen eine Infektion mit *S. typhimurium* an einer größeren Mäusepopulation zu überprüfen. Um Hinweise zu erlangen, ob die von KIRCHNER (1982) beobachtete Schutzwirkung des Stammes E. coli E 68 etwas mit dessen Fähigkeit zur Ausbildung des K 88-Antigens zu tun hat, wurde für einen weiteren Immunisierungsversuch ein E. coli-Stamm

verwendet, der diese Fähigkeit nicht hatte. Das K 88-Antigen stellt beim Ferkel einen Pathogenitätsfaktor dar, mit dessen Hilfe die diesen Faktor tragenden Stämme sich an der Darmschleimhaut anheften und diese kolonisieren. Als Vergleichs-keim, der über diesen Faktor nicht verfügte, bot sich der Stamm *E. coli* K 12 an, weil dieser durch sein Wachstum in rauen Kolonieförmigen und seine Unfähigkeit Laktose abzubauen in den Infektionsvorversuchen leicht zu identifizieren war. Die Identifikation des *E. coli*-Stammes E 68 war über dessen typisches Hämolysevermögen möglich. Als weiterer Keim zur unspezifischen Immunisierung wurde der apathogene *Yersinia enterocolitica*-Stamm 10750 verwendet, dessen Nachweis über Kälteanreicherung, Selektiv-Agar und Objektträgeragglutination geführt werden konnte.

Für die Dosierung des Stammes *E. coli* E 68 in den Versuchen Nr. 1, 2, 4 und 5 wurde der von KIRCHNER (1982) angegebene Bereich gewählt. Jede Maus erhielt an 2 Tagen jeweils 1×10^9 Keime. In Versuch Nr. 3 erhielten die Tiere an 4 Tagen jeweils eine Dosis von 1×10^9 Keimen.

Um Aufschluß zu erhalten über die mögliche Haftung des zur Vorbehandlung gebrauchten Stammes im Darm der Tiere wurden jeweils 10 Tiere am 5., 10. und 20. Tag nach Abschluß der Vorbehandlung getötet und auf das Vorkommen des zur Vorbehandlung gebrauchten Stammes untersucht. Dabei wurde am 10. Tag *E. coli* E 68 nicht mehr nachgewiesen, während der Stamm am 5. Tag noch bei 6 von 10 Tieren gefunden wurde. Auch bei der höheren Dosierung von *E. coli* E 68 aus Versuch Nr. 3 war der Anteil positiver Tiere am 5. und 10. Tag nicht größer. Bei den Stämmen *E. coli* K 12 und *Yersinia enterocolitica* 10750 gelang ein Nachweis einer Haftung nicht. Diese Keime wurden mit 1×10^{10} Keimen pro Einzelgabe höher dosiert als *E. coli* E 68. Durch diese zehnmal höhere Dosis sollte ein Ausgleich dafür geschaffen werden, daß die Stämme sich auf der Darmschleimhaut nicht oder nur ganz vorüber-

gehend ansiedelten beziehungsweise vermehrten.

Versuch Nr. 6

Mit den beiden in diesem Versuch verwendeten *E. coli*-Stämmen standen zwei Stämme mit den gleichen O- und K-Antigenen (O 138 : K 81) zur Verfügung, von denen sich der eine durch die Fähigkeit zur Ausbildung von K 88-Anheftungsfaktoren auszeichnete (K 88+). Die Identifikation der Stämme war mittels Objektträgeragglutination möglich und die Unterscheidung voneinander durch das Hämolysevermögen des das K 88-Antigen bildenden Stammes. Die Verwendung dieses Keimpaares (K 88+ und K 88-) sollte, wie schon in den Versuchen Nr. 1 - 5, gegebenenfalls die Bedeutung der Anheftungsfaktoren bei der Induzierung eines Schutzes gegen Salmonellose erhellen.

Der für den Versuch ausgewählte *Y. enterocolitica*-Stamm 54-2B vermochte, anders als der in den Versuchen Nr. 1 - 5 verwendete Stamm, einige Zeit im Darm infizierter Mäuse zu persistieren. Der Nachweis dieses Stammes erfolgte wie für den *Y. enterocolitica*-Stamm 10750 Seite 27 beschrieben.

Die Vorbehandlung mit den Stämmen *E. coli* K 88+, *E. coli* K 88- und dem *Y. enterocolitica*-Stamm 54-2B erfolgte über 6 Tage. Der *Y. enterocolitica*-Stamm 54-2B wurde dabei in der Konzentration von 1×10^7 Keimen pro ml Trinkwasser gegeben, die beiden *E. coli*-Stämme in der Konzentration von $1,5 \times 10^7$ Keimen pro ml Trinkwasser.

Kontrolluntersuchungen über die Haftungsdauer der verabfolgten Stämme führten zum Nachweis von *Y. enterocolitica* 54-2B im Darm bei 10 von 10 Mäusen 5 Tage nach Vorbehandlung. Nach 10 Tagen waren es 8 von 10, nach 20 Tagen 5 von 10, bei denen die Yersinien nachgewiesen wurden. *E. coli* K 88- war schon 5 Tage nach Vorbehandlung nicht mehr nachweisbar, *E. coli* K 88+ konnte zu diesem Zeitpunkt bei 2 von 10 Mäusen isoliert werden.

3.2. Belastungsinfektion mit *S. typhimurium*

3.2.1. Zeitlicher Ablauf

Die Belastungsinfektion mit *S. typhimurium* wurde zu zwei verschiedenen Zeitpunkten vorgenommen. Der eine Teil der Versuchstiere wurde am 10. Tag nach Vorbehandlung (Versuche Nr. 1, 2, 3 und 6), der andere Teil wurde am 20. Tag (Versuche Nr. 4 und 5) mit *S. typhimurium* infiziert. Mit dieser Terminwahl wurde eine Verlaufsuntersuchung angestrebt, der die Überlegung zugrunde lag, daß eine durch die Vorbehandlung mit lebenden Keimen eintretende Resistenzsteigerung wesentlich auf der Aktivierung zellulärer Abwehrmechanismen beruhen würde (SZIEGOLEIT, 1980). In diesem Fall müßte der Höhepunkt der erreichbaren unspezifischen Resistenzsteigerung, soweit sie auf einer Makrophagenaktivierung beruht, 10 Tage nach der Vorbehandlung erreicht und nach weiteren 10 Tagen bereits wieder überschritten sein (SCHULZE u. Mitarb., 1973; SZIEGOLEIT, 1980).

3.2.2. Dosierung

Um bei nicht vorbehandelten Tieren durch orale Infektion mittels Knopfkanüle einen sicheren Infektionsgrad von über 80 % der Mäuse zu erreichen, mußte die Belastungsdosis sehr hoch gewählt werden, denn bei einer Gabe zwischen 1×10^7 und 5×10^8 *S. typhimurium* pro Maus waren sehr weite Streuungen im Infektionsgeschehen zu beobachten (vergleiche Tab. 1). So wurden in den Versuchen Nr. 2 und 5 pro Maus 1×10^{10} *S. typhimurium* oral per Knopfkanüle gegeben, in den Versuchen Nr. 1, 3 und 4 1×10^9 *S. typhimurium*.

In Versuch Nr. 6 wurde die Belastungsinfektion über das Trinkwasser über einen Zeitraum von 40 Stunden durchgeführt. Das Wasser enthielt 3×10^7 *S. typhimurium* pro ml.

3.3. Überprüfung des Immunisierungserfolges

Um Auswirkungen der unspezifischen Immunisierung auf die nachfolgende Belastungsinfektion mit *S. typhimurium* feststellen zu können, wurden am 6. Tag nach Belastungsinfektion die Tiere getötet und untersucht. Dabei war von besonderem Interesse, ob als Ausdruck eines möglichen Impfschutzes die Haftung des Belastungskeimes im Darm oder nur ein Übertritt in die Organe verhindert werden konnte. Um letzteres zu überprüfen, wurden Leber und Milz untersucht. Um eventuell auch Aussagen über den Verlauf beziehungsweise den Grad der Infektion machen zu können, wurde durch Keimzählung der Milzhomogenate die Besiedlung der Milz durch *S. typhimurium* quantitativ gemessen (Versuch Nr. 1 - 5). Zusätzlich wurden die Milzen gewogen. Da die Leberinfektionsrate sich in den Versuchen Nr. 1 - 5 nur bei 3 von 485 organinfizierten Tieren von der Milzinfektionsrate unterschied (vergleiche Tab. 6 - 10), wurde in Versuch Nr. 6 auf die Untersuchung der Leber verzichtet zugunsten der zusätzlichen Untersuchung des Rektums. Die Keimzahlbestimmung der Milz wurde durch ein einfacheres Verfahren zur Abschätzung des Infektionsgrades abgelöst (Vergleiche S. 25).

4. Ergebnisse

4.1. Orale Infektion mit *S. typhimurium*

Um das natürliche Infektionsgeschehen möglichst getreu zu simulieren, sowie mögliche Resistenzsteigerungen gegenüber einer Infektion mit *S. typhimurium* durch die Vorbehandlung der Mäuse mit anderen Enterobacteriaceen-Stämmen auch dann zu erfassen, wenn sie nur geringgradig ausgeprägt waren, wurde für die Belastungsinfektion nach einer Dosis gesucht, die die Mäuse nicht tötete. Andererseits sollten möglichst alle nicht vorbehandelten Tiere von der Infektion erfaßt werden.

Die Versuche wurden mit zwei verschiedenen *S. typhimurium*-Stämmen durchgeführt.

4.1.1. Intragastrale Infektion mit *S. typhimurium*- Stamm DICKEL

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. In die Tabelle wurden auch die Kontrollgruppen aus den Immunitätsbelastungsversuchen aufgenommen.

Erläuterungen zu den Tabellen und Abbildungen:

Dosis ..S/M:	Die pro Maus applizierte Dosis an <i>S. typhimurium</i> .
Untersuchung ..d p.I.:	Der Tag nach Infektion, an dem die Tiere untersucht wurden.
Milz (Mi) + :	Anzahl beziehungsweise prozentualer Anteil nachgewiesener Salmonella-Infektionen der Milz.
Leber (L) + :	Anzahl beziehungsweise prozentualer Anteil nachgewiesener Salmonella-Infektionen der Leber.
Organe + :	Anzahl beziehungsweise prozentualer Anteil der in Milz und/oder Leber nachgewiesenen Salmonella-Infektionen = Organinfektionsrate.
Darm (D) + :	Anzahl beziehungsweise prozentualer Anteil nachgewiesener Salmonella-Infektionen im Darm.
Gesamt+/von..Tieren:	Die Gesamtinfektionsrate umfaßt alle Tiere einer Gruppe, bei denen Salmonella-Infektionen nachgewiesen wurden, unabhängig von der Lokalisation der Infektion.
gest. Mäuse :	Anzahl der Mäuse beziehungsweise prozentualer Anteil der Mäuse, die bis zum Untersuchungstag an der Infektion mit <i>S. typhimurium</i> gestorben waren.
Anzahl Mäuse :	Anzahl der Mäuse in einem Versuchsan-satz beziehungsweise einer Versuchsgruppe.

Versuch Nr.	Dosis ..S/M	Untersuchung ..d p.I.	Milz +	Darm +	Gesamt +/von.. Tieren	gest. Mäuse
1	1×10^7	6	10	6	10/20	-
2	1×10^8	3	3	2	5/10	-
3	1×10^8	6	4	2	4/10	-
4	1×10^8	6	8	8	9/10	-
5	$3,5 \times 10^8$	5	9	6	9/10	-
6	$5,5 \times 10^8$	6	4	2	4/10	-
7	3×10^9	6	7	7	7/8	-
8	8×10^9	5	10	8	10/10	-
9	8×10^9	5	10	10	10/10	-
10	* 8×10^9	5	10	10	10/10	-
11	* 8×10^9	5	11	11	11/11	-
12	1×10^9	6	39	37	39/40	-
13	1×10^9	6	39	30	39/40	1
14	1×10^9	6	39	33	39/40	3
15	1×10^{10}	6	34	33	34/34	3
16	1×10^{10}	6	41	39	41/41	1

Tab 1: Infektionsraten nach intragastraler Infektion mit *S. typhimurium*-Stamm DICKEL

* = 24 Stunden Wasserentzug

Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 32

Bei den mit 1×10^9 und 1×10^{10} Salmonellen pro Maus (S/M) infizierten Gruppen 12 - 16 handelt es sich um die Kontrolltiere aus den Immunitätsbelastungsversuchen. Die Gruppen 13 und 16 gehören zu den am 20. Tag nach Vorbehandlung belasteten. Die Tiere dieser Gruppe waren also bei Belastung mit *S. typhimurium* 10 Tage älter, als die am 10. Tag nach Vorbehandlung belasteten Tiere der Gruppen 12, 14 und 15.

Bei Verwendung von weniger als 1×10^9 Salmonellen pro Maus (1×10^7 - $5,5 \times 10^8$) als Infektionsdosis ist die Infektionsrate am 3. bis 6. Tag nach Infektion nicht sicher vorhersehbar. In vier Gruppen war die Hälfte der Mäuse oder weniger infiziert (Gruppen 1, 2, 3 und 6). In zwei Gruppen waren fast alle Tiere infiziert (Gruppen 4 und 5). Durchgehend überwog die Zahl der Organinfektionen die der Darminfektionen oder war dieser gleich. In den Gruppen mit niedriger Infektionsrate traten regelmäßig Unterschiede zwischen Organ- und Darminfektionen auf. Nach Infektion mit 1×10^9 und mehr Salmonellen pro Maus waren stets alle oder fast alle Mäuse infiziert bei mit steigender Dosierung nur noch geringen oder gar keinen Unterschieden zwischen Organ- und Darminfektionen.

4.1.2. Intragastrale Infektion mit *S. typhimurium*- Stamm LT 2

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Versuch Nr.	Dosis ..S/M	Untersuchung ..d p.I.	Milz +	Darm +	Gesamt +/von.. Tieren	gest. Mäuse
1	5×10^7	5	10	1	10/10	-
2	5×10^7	6	3	3	4/10	-
3	1×10^8	5	3	4	4/10	-
4	2×10^8	5	10	3	10/10	-
5	2×10^8	6	1	2	2/10	-
6	2×10^8	6	4	4	6/10	-
7	2×10^8	6	1	2	3/10	-
8	2×10^8	6	1	3	4/10	-
9	5×10^8	5	5	7	7/10	-
10	5×10^8	5	5	2	5/10	-
11	6×10^8	5	3	4	4/10	-
12	6×10^8	5	3	2	4/10	-
13	5×10^9	5	7	4	8/10	-
14	5×10^9	5	8	8	10/10	-

Tab. 2: Infektionsraten nach intragastraler Infektion mit
S. typhimurium-Stamm LT 2
Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 32

Um die Mehrzahl der Tiere zu infizieren, mußten auch hier den Mäusen große Mengen an S. typhimurium verabreicht werden. Mit einer Dosis von 5×10^9 Salmonellen pro Maus konnten in einer Gruppe 8 und in einer anderen Gruppe 10 von 10 Mäusen infiziert werden. Im Dosisbereich von 5×10^7 - 6×10^8 Salmonellen pro Maus war der Infektionsgrad der so belasteten

Gruppen starken Schwankungen unterworfen. Es erwiesen sich zwischen 2 und 10 von 10 Tieren als infiziert. Anders als nach Infektion mit dem *S. typhimurium*-Stamm DICKEL ließ sich hier nicht durchgehend eine größere Häufigkeit der Organinfektionen feststellen. Hier kamen im unteren Dosisbereich (bis 2×10^8 S/M) 4 Gruppen mit mehr Darm- als Organinfektionen vor gegenüber 2 Gruppen, bei denen die Organinfektionen überwogen. Bei 2 Gruppen war die Zahl der Organ- und Darminfektionen gleich. Im oberen Dosisbereich (5×10^8 - 5×10^9 S/M) traten 2 Gruppen mit mehr Darm- als Organinfektionen auf gegenüber 3 Gruppen mit mehr Organinfektionen. In einer Gruppe war die Zahl der Organ- und Darminfektionen gleich (Gruppe 14).

Wegen der insgesamt zuverlässigeren Infektiosität des *S. typhimurium*-Stammes DICKEL kam für die Immunitätsbelastungsversuche dieser Stamm zur Anwendung.

4.1.3. Infektion über das Trinkwasser mit *S. typhimurium*-Stamm DICKEL

Da eine Infektion über das Trinkwasser dem natürlichen Infektionsgeschehen näher kommt als eine Infektion über die Knopfkanüle, wurden in einem 2. Versuchsabschnitt Infektionsversuche über die Tränke durchgeführt. Hierbei mußte in Kauf genommen werden, daß nicht kontrolliert werden konnte, wie viele Salmonellen jedes einzelne Tier aufnahm. Um eine möglichst gleichstarke Infektion der einzelnen Mäuse zu erreichen, konfrontierten wir die Tiere über fast 2 Tage (40 Std.) mit kontaminiertem Trinkwasser. Es war anzunehmen, daß sich mögliche Unterschiede im Trinkverhalten der Einzeltiere über diesen Zeitraum ausgleichen und sich somit auch die Infektionsdosen im gleichen Rahmen bewegen würden. Zur Infizierung wurde den Tieren eine frisch hergestellte *Salmonella*-Suspension der gewünschten Dichte über ihre Tränkeflaschen verabreicht. Die Salmonellen wurden hierzu in sterilem Leitungswasser unter

Zusatz von 0,1 % Pepton aufgeschwemmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Versuch Nr.	Konzentration im Trinkw. ..S/ml	Untersuchung ..d p.I.	Milz +	Darm +	Gesamt +/von.. Tieren	gest. Mäuse
T 1	7×10^6	5	2	2	4/15	-
T 2	7×10^7	6	20	20	20/20	1
T 3	7×10^7	11	20	20	20/20	3
T 'N'	3×10^7	6	39	39	39/39	2

Tab. 3: Infektionsraten nach Infektion über die Tränke mit *S. typhimurium*-Stamm DICKEL

Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 32

Eine Konzentration von 7×10^6 Salmonellen pro ml Tränke führte nur zu einer geringen Infektionsrate. Bei Verwendung von kontaminiertem Wasser mit einer Konzentration von 7×10^7 Salmonellen pro ml wurden alle Tiere der beiden Gruppen infiziert. Die Tiere der Gruppe T 'N' sind die Kontrolltiere aus dem Versuch zur unspezifischen Immunisierung über die Tränke. Hier wurde zur Erhöhung der Stammvirulenz vor der Infektion der Gruppe T 'N' mit dem Salmonella-Stamm eine intraperitoneale Mäusepassage durchgeführt. Auch in der Gruppe T 'N' konnte eine Infektiönshaftung bei allen Tieren erreicht werden. Darm- und Organinfektionsrate ist in allen Tränkeversuchen gleich.

Da sowohl über die Tränke als auch mittels Knopfkanüle zuverlässig hohe Infektionsraten bei geringen Tierverlusten erzielt werden konnten, fanden in den weiteren Versuchen beide Methoden Verwendung. Aus arbeitstechnischen Gesichtspunkten wurde ein größerer Teil der Versuche mit der Knopfkanüle durchgeführt.

4.2. Ergebnisse der unspezifischen Immunisierung gegen eine Belastungsinfektion mit *S. typhimurium*

Die Versuche zur unspezifischen Immunisierung wurden mit verschiedenen Enterobacteriaceen-Stämmen in 2 Abschnitten durchgeführt. In den Versuchen Nr. 1 - 5 wurde die Applikation der zur Vorbehandlung benutzten Stämme, wie auch des zur Belastung verwendeten Stammes, mittels einer Knopfkanüle vorgenommen. In Versuch Nr. 6 erfolgten Vorbehandlung wie auch Belastungsinfektion über das Trinkwasser.

4.2.1. Orale Vorbehandlung mit den Stämmen *E. coli* E 68, *E. coli* K 12 und *Y. enterocolitica* 10750 mittels Knopfkanüle

4.2.1.1. Versuchsablauf und Übersichtsschema

Zur Übersicht ist nachfolgend die Konzeption der Immunisierungsversuche Nr. 1 - 5 in einem Schema dargestellt (Tab. 4). Die zur Immunisierung benutzten Stämme *E. coli* E 68, *E. coli* K 12 und *Y. enterocolitica* 10750 wurden in den 4 Versuchen Nr. 1, 2, 4 und 5 jeweils zweimal an 2 verschiedenen Tagen in gleicher Dosierung gegeben. Die Tiere in Versuch Nr. 3 wurden viermal an 4 verschiedenen Tagen wieder mit der gleichen Dosierung behandelt. Am 10. Tag nach Ende der Vorbehandlung wurde in den Versuchen Nr. 1, 2 und 3 die Belastungsinfektion gesetzt. Die Tiere in den Versuchen Nr. 4 und 5 wurden am 20. Tag nach Vorbehandlung belastet. In den Versuchen Nr. 1, 3 und 4 wurde eine Belastungsdosis von 1×10^9 *S. typhimurium* pro Maus gegeben. In den Versuchen Nr. 2 und 5 wurde mit 1×10^{10} *Salmonellen* pro Maus belastet.

Erläuterungen zu den Abbildungen und Tabellen:

- Vorbehandlung 2 x, 4 x = Die 2- beziehungsweise 4-malige Gabe der jeweiligen Impfstämme, vergleiche hierzu Seite 26
- Vorbehandlung E 68 = Die Vorbehandlung erfolgte mit *E. coli* E 68 K 88
- Vorbehandlung K 12 = Die Vorbehandlung erfolgte mit *E. coli* K 12
- Vorbehandlung Y 1 = Die Vorbehandlung erfolgte mit *Y. enterocolitica* 10750
- Vorbehandlung N = Kontrolltiere, die Tiere erhielten an Stelle von Keimen Pepton-NaCl appliziert
- Belastung 10. Tag = Der Tag nach Abschluß der Vorbehandlung, an dem die Belastungsinfektion mit *S. typhimurium* stattfand.
20. Tag

Versuch Nr.	Vorbehandlung	Belastungsdosis S/Maus	
		10. Tag	20. Tag
1	2 x	10^9	
1.1	E 68		
1.2	K 12		
1.3	Y 1		
1.4	N		
2	2 x	10^{10}	
2.1	E 68		
2.2	K 12		
2.3	Y 1		
2.4	N		
3	4 x	10^9	
3.1	E 68		
3.2	K 12		
3.3	Y 1		
3.4	N		
4	2 x		10^9
4.1	E 68		
4.2	K 12		
4.3	Y 1		
4.4	N		
5	2 x		10^{10}
5.1	E 68		
5.2	K 12		
5.3	Y 1		
5.4	N		

Tab. 4: Konzeption der Versuche Nr. 1 - 5

Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 39

4.2.1.2. Wirkung der Infektion mit 10^9 und 10^{10} Salmonellen pro Maus auf nicht vorbehandelte Mäuse

An Stelle der zur unspezifischen Immunisierung benutzten Stämme erhielten die mitgeführten Kontrollgruppen Pepton-NaCl über eine Knopfkanüle. Das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung der dann mit 10^9 beziehungsweise 10^{10} Salmonellen pro Maus belasteten Gruppen ist aus Tabelle 5 zu ersehen.

Dosis ..S/M	10^9			10^{10}	
Versuch Nr.	1	3	4	2	5
Gesamt + (%)	98	98	98	100	100
Darm + (%)	93	83	75	97	95
Organe + (%)	98	98	98	100	100
Milz- gewicht (mg)	224 +71	220 +47	250 +71	277 +93	297 +77
gest. Mäuse	-	3	1	3	1
Anzahl Mäuse	40	40	40	34	41

Tab. 5: Wirkung der Infektion mit 10^9 und 10^{10} Salmonellen pro Maus auf nicht vorbehandelte Mäuse
Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 32

Die gegenüber der Dosis 10^9 Salmonellen pro Maus höhere Infektiosität von 10^{10} Salmonellen pro Maus zeigt sich am deutlichsten bei Betrachtung der Darminfektionsraten. Nach Belastung mit 10^9 Salmonellen pro Maus wurden im Mittel bei 83 % der Tiere Salmonellen im Darm nachgewiesen gegenüber 96 % Salmonellen beherbergender Tiere bei der Dosis 10^{10} . Organinfektionen waren bei den mit 10^{10} Salmonellen pro Maus belasteten Tieren durchgehend anzutreffen. Die geringere Dosis bewirkte nur geringfügig weniger Organinfektionen (98 %). Die Gesamtinfektionsrate deckte sich hier in allen 5 Gruppen mit der der Organinfektionen. An Tierverlusten durch die Salmonella-Infektion waren bei der höheren Dosis 5 % zu verzeichnen, 3 % bei der niedrigeren. Die Milzen der mit 10^{10} Salmonellen pro Maus belasteten Tiere waren im Durchschnitt schwerer als die der mit 10^9 belasteten. Innerhalb der beiden Populationen zeichneten sich die am 20. Tag belasteten Tiere (Versuch Nr. 4 und 5) durch etwas geringere Darminfektionsraten aus, als die am 10. Tag mit der gleichen Dosis infizierten. Die Mittelwerte der Milzgewichte erwiesen sich bei den später belasteten und somit 10 Tage älteren Tieren als etwas höher.

Die Ergebnisse der Keimzahlbestimmung der Milz sind in Tabelle 6, Seite 44, wiedergegeben. Es fanden sich keimfreie Milzen neben Milzen, die 10^5 , 10^6 und 10^7 Keime aufwiesen. In dieser Tabelle ist eine Unterteilung der Ergebnisse der Keimzahlbestimmung für die Kontrollgruppen anhand verschiedener Grenzwerte vorgenommen. Die stärkere Infektiosität der Dosis 10^{10} Salmonellen pro Maus ist auch aus der Darstellung der Milzinfektionsgrade zu erkennen. Der Anteil der Tiere mit nur schwach infizierten Milzen (Infektionsgrad I und II) erwies sich in den mit der höheren Dosis belasteten Gruppen als deutlich geringer. Dies gilt unabhängig vom Belastungszeitpunkt und geht parallel zur Zahl darminfizierter Tiere, die bei der höheren Dosis größer war (Vergleiche Tab. 5). Keines der 75 mit 10^{10} Salmonellen pro Maus belasteten Tiere hatte in

der Milz weniger als 100 Keime (Infektionsgrad I). Von den 120 mit 10^9 Salmonellen pro Maus belasteten Mäusen gehörten immerhin 13 zu dieser Kategorie. Ein ähnliches Bild ergibt sich, zieht man den Infektionsgrad II mit 1000 Keimen als Grenzwert in die Betrachtung mit ein. Bei den mit 10^{10} Salmonellen pro Maus belasteten Tieren gehören 4 von 75 (5 %) zu den Infektionsgraden I und II, bei Belastung mit 10^9 sind es 28 von 120 (23 %).

Weiterhin ist aus Tabelle 6 zu entnehmen, daß sich ein späterer Belastungszeitpunkt - die Tiere in Versuch Nr. 4 und 5 sind bei Belastung 10 Tage älter als die Tiere in Versuch Nr. 1 und 2 - dahingehend bemerkbar macht, daß mehr Tiere geringere Keimzahlen aufweisen; das Bild verschiebt sich in Richtung geringerer Infektionsgrade.

Dosis ..S/M	10^9			10^{10}	
Versuch Nr.	1	3	4	2	5
Infektionsgrad					
I ($0 \leq x \leq 10^2$)	1	6	6	0	0
II ($10^2 < x \leq 10^3$)	7	3	5	2	2
III ($10^3 < x \leq 10^4$)	17	18	13	11	25
IV ($10^4 < x \leq 10^5$)	8	6	8	11	10
V ($10^5 < x \leq 10^6$)	6	2	6	3	2
VI ($10^6 < x$) *	1	5 (3)*	2 (1)*	7 (3)*	2 (1)*
Anzahl Mäuse	40	40	40	34	41
Max. Keimzahl pro Milz	$1,6 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$2,4 \times 10^7$	$2,6 \times 10^6$

Tab. 6: Bewertung des Milzinfektionsgrades anhand der Keimzahl pro Organ für die Kontrollgruppen aus den Versuchen Nr. 1 - 5.

Die Einteilung in Infektionsgrade erfolgte mit Hilfe der Anzahl der in der Milz nachgewiesenen Salmonellen (= Keimzahl x).

* = Die unter Infektionsgrad VI angegebene Zahl beinhaltet Tiere mit Keimzahlen über 10^6 und die Tiere, die an der Salmonella-Infektion gestorben sind. Ihre Zahl ist zusätzlich noch einmal in Klammern angegeben.

Weitere Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 32 und Übersicht über die Versuche Nr. 1 - 5 siehe Seite 40

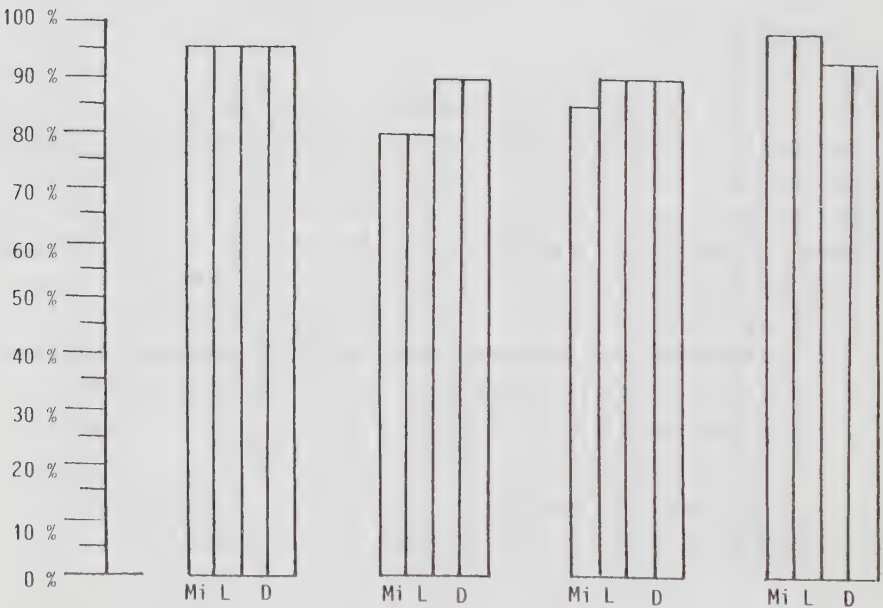
4.2.1.3. Wirkung einer zweimaligen Vorbehandlung auf eine Infektion mit 10^9 Salmonellen pro Maus (Versuche Nr. 1 und 4)

Die Vorbehandlung der Tiere erfolgte durch zweimalige Gabe des jeweiligen Impfstammes im Abstand von 2 Tagen. In Versuch Nr. 1 (Tab. 7 und Abb. 1) wurde 10 Tage nach Vorbehandlung mit 10^9 Salmonellen pro Maus oral infiziert. In Versuch Nr. 4 (Tab. 8 und Abb. 2) erfolgte die Belastungsinfektion 20 Tage nach Vorbehandlung (vergleiche Übersichtschema Seite 40).

Versuch Nr. 1

Bei den mit E. coli K 12 vorbehandelten Tieren war die Anzahl der Organinfektionen niedriger als die der Darminfektionen (80 zu 90 %). In den anderen Gruppen war die Anzahl der Organinfektionen gleich der der Darminfektionen (E 68 und Y 1), oder sie lag höher (Kontrollgruppe N). Bis auf ein geringfügig besseres Ergebnis der mit K 12 und Y 1 geimpften Tiere in Bezug auf die Organinfektionen (80 beziehungsweise 90 % Organinfektionsrate gegenüber 98 % bei den Kontrollen) waren keine Unterschiede zwischen geimpften Tieren und den Kontrollen festzustellen.

Vorbehandlung	E 68	K 12	Y 1	N
Anzahl Mäuse	19	20	20	40
Milz +	18	16	17	39
Leber +	18	16	18	39
Darm +	18	18	18	37
Gesamt +	18	18	18	39
gest. Mäuse	-	-	-	-



Tab. 7 und Abb. 1: Versuch Nr. 1

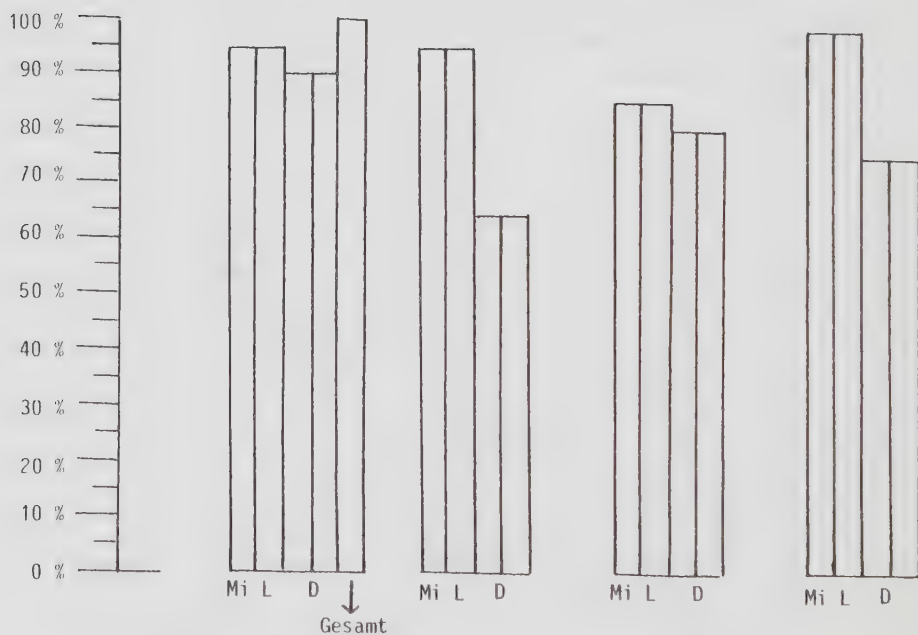
Anzahl der durch *S. typhimurium* erfolgten Infektionen und graphische Darstellung der prozentualen Infektionsraten in der jeweiligen Versuchsgruppe (Vorbehandlung zweimal, Belastung nach 10 Tagen mit 10^9 *S. typhimurium* pro Maus, Untersuchung 6 Tage später).

Weitere Erläuterungen siehe Seite 32 und 39

Versuch Nr. 4 (vergleiche Tab. 8 und Abb. 2)

Bei den am 20. Tag nach Vorbehandlung mit 10^9 Salmonellen pro Maus infizierten Tieren überwog sowohl bei den geimpften als auch bei den Kontrolltieren die Rate der Organinfektionen die der Darminfektionen. Das Ausmaß der Organinfektionen war bei geimpften und ungeimpften Tieren fast gleich hoch. Lediglich die mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm Y 1 vorbehandelten hatten etwas weniger häufig infizierte Organe als die Kontrolltiere (85 zu 98 %). Die Zahl der Darminfektionen war bei den mit *E. coli* K 12 behandelten Tieren etwas niedriger als bei den Kontrollen. Die mit *E. coli* E 68 und *Yersinia*-Stamm Y 1 behandelten Gruppen wiesen Darminfektionen sogar häufiger auf als die Kontrollen.

Vorbehandlung	E 68	K 12	Y 1	N
Anzahl Mäuse	20	20	20	40
Milz +	19	19	17	39
Leber +	19	19	17	39
Darm +	18	13	16	30
Gesamt +	20	19	17	39
gest. Mäuse	-	-	-	1



Tab. 8 und Abb. 2: Versuch Nr. 4

Anzahl der durch *S. typhimurium* erfolgten Infektionen und graphische Darstellung der prozentualen Infektionsraten in der jeweiligen Versuchsgruppe (Vorbehandlung zweimal, Belastung nach 20 Tagen mit 10^9 *S. typhimurium* pro Maus, Untersuchung 6 Tage später).

Weitere Erläuterungen siehe Seite 32 und 39

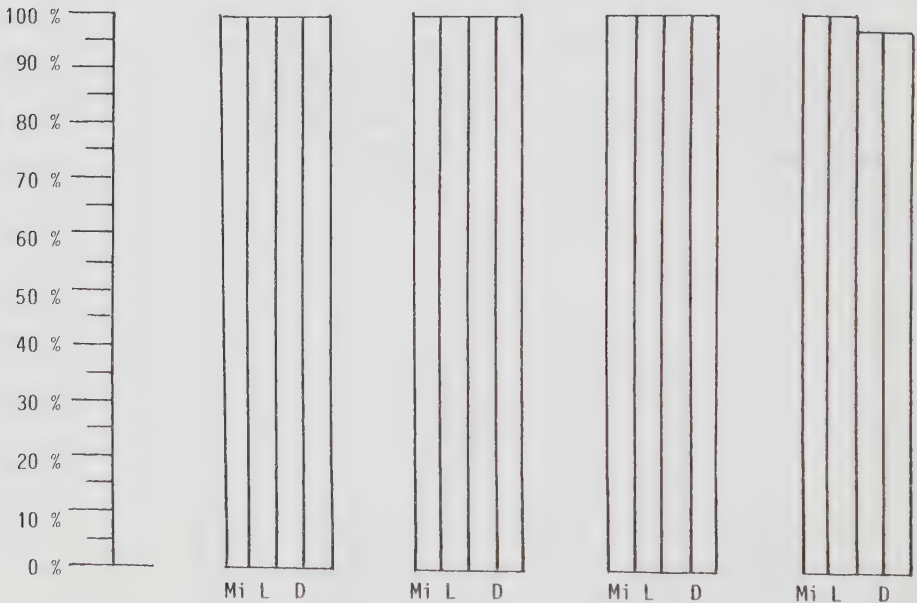
4.2.1.4. Wirkung einer zweimaligen Vorbehandlung auf eine Infektion mit 10^{10} Salmonellen pro Maus (Versuche Nr. 2 und 5)

Die Vorbehandlung erfolgte wie unter 4.2.1.3. für die Versuche Nr. 1 und 4 beschrieben. Wie aus dem Übersichtsschema Seite 40 zu entnehmen ist, wurde die Belastungsinfektion in Versuch Nr. 2: 10 Tage und in Versuch Nr. 5: 20 Tage nach Vorbehandlung gesetzt. Jedes Tier wurde mit 10^{10} Salmonellen oral infiziert.

Versuch Nr. 2 (vergleiche Tab. 9 und Abb. 3)

Die Infektion mit 10^{10} Salmonellen pro Maus führte bei den vorbehandelten wie bei den Kontrolltieren zu einer Infektionsrate von 100 %. Dabei lag die Zahl der Organinfektionen in keiner Gruppe unter der der Darminfektionen. Es starben insgesamt 7 von 98 Tieren.

Vorbehandlung	E 68	K 12	Y 1	N
Anzahl Mäuse	22	21	21	34
Milz +	22	21	21	34
Leber +	22	21	21	34
Darm +	22	21	21	33
Gesamt +	22	21	21	34
gest. Mäuse	1	1	2	3



Tab. 9 und Abb. 3: Versuch Nr. 2

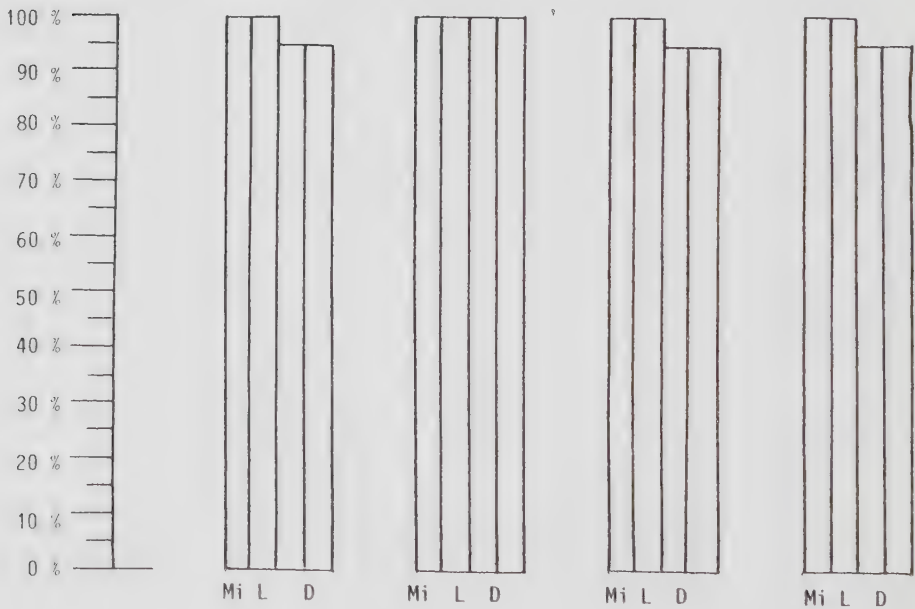
Anzahl der durch *S. typhimurium* erfolgten Infektionen und graphische Darstellung der prozentualen Infektionsraten in der jeweiligen Versuchsgruppe (Vorbehandlung zweimal, Belastung nach 10 Tagen mit 10^{10} *S. typhimurium* pro Maus, Untersuchung 6 Tage später).

Weitere Erläuterungen siehe Seite 32 und 39

Versuch Nr. 5 (vergleiche Tab. 10 und Abb. 4)

Das Infektionsgeschehen in Versuch Nr. 5 ist dem in Versuch Nr. 2 sehr ähnlich. Die Gesamtinfektionsrate beträgt für behandelte wie unbehandelte Tiere 100 % und ist somit mit der in Versuch Nr. 2 identisch. Es starben allerdings etwas weniger Tiere als bei Belastung am 10. Tag (3 % in Versuch Nr. 5, 7 % in Versuch Nr. 2). Einige der später belasteten Tiere konnten sich auch von der Darminfektion befreien (4 von 101).

Vorbehandlung	E 68	K 12	Y 1	N
Anzahl Mäuse	20	20	20	41
Milz +	20	20	20	41
Leber +	20	20	20	41
Darm +	19	20	19	39
Gesamt +	20	20	20	41
gest. Mäuse	-	2	-	1



Tab. 10 und Abb. 4: Versuch Nr. 5

Anzahl der durch *S. typhimurium* erfolgten Infektionen und graphische Darstellung der prozentualen Infektionsraten in der jeweiligen Versuchsgruppe (Vorbehandlung zweimal, Belastung nach 20 Tagen mit 10^{10} *S. typhimurium* pro Maus, Untersuchung 6 Tage später).

Weitere Erläuterungen siehe Seite 32 und 39

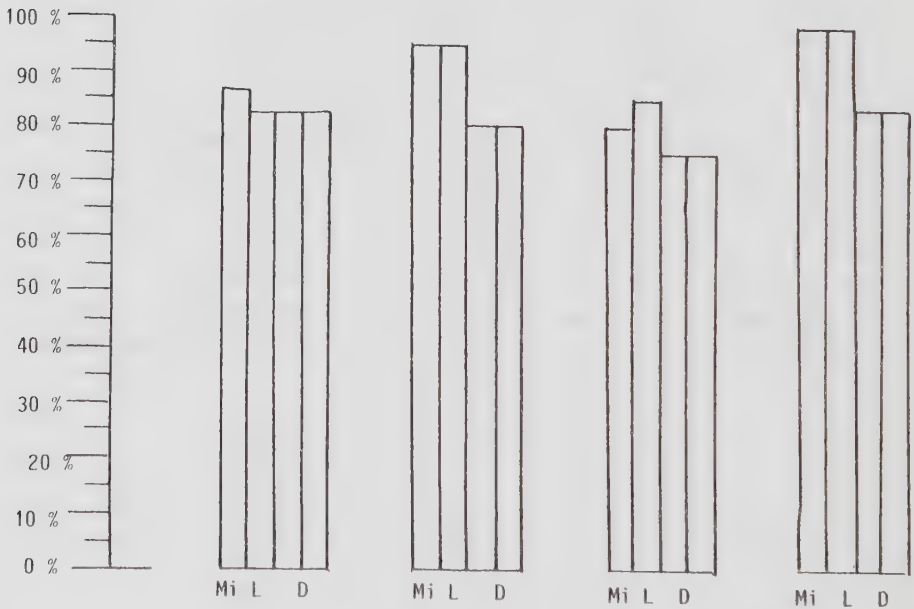
4.2.1.5. Wirkung einer viermaligen Vorbehandlung auf eine Infektion mit 10^9 Salmonellen pro Maus
(Versuch Nr. 3)

Die Tiere in Versuch Nr. 3 wurden viermal in 5 Tagen mit E 68, K 12, Y 1 beziehungsweise Pepton-NaCl behandelt. Nach 10 Tagen erfolgte die Belastungsinfektion mit 10^9 Salmonellen pro Maus.

Versuch Nr. 3 (vergleiche Tabelle 11 und Abb. 5)

Die Anzahl der Organinfektionen (Milz und Leber) lag höher als die Zahl der Darminfektionen sowohl bei den vorbehandelten Tieren, als auch bei den Kontrolltieren. Die mit E. coli E 68 und Y. enterocolitica-Stamm Y 1 vorbehandelten Tiere zeigten Organinfektionen etwas weniger häufig als die Kontrollen (87 und 85 % zu 98 %). Bezüglich der Darminfektionen unterschieden sich die mit Y. enterocolitica vorbehandelten Tiere geringfügig von den fast einheitlich infizierten Tieren der Gruppen E 68, K 12 und N. Bei den Tieren der Gruppe Y 1 wurden in 75 % der Fälle Salmonellen im Darm nachgewiesen, in den anderen Gruppen beherbergten 80 % und mehr Mäuse Salmonellen im Darm.

Vorbehandlung	E 68	K 12	Y 1	N
Anzahl Mäuse	30	20	20	40
Milz +	26	19	16	39
Leber +	25	19	17	39
Darm +	25	16	15	33
Gesamt +	26	19	17	39
gest. Mäuse	1	1	1	2



Tab. 11 und Abb. 5: Versuch Nr. 3

Anzahl der durch *S. typhimurium* erfolgten Infektionen und graphische Darstellung der prozentualen Infektionsraten in der jeweiligen Versuchsgruppe (Vorbehandlung viermal, Belastung nach 10 Tagen mit 10^9 *S. typhimurium* pro Maus, Untersuchung 6 Tage später)

Weitere Erläuterungen siehe Seite 32 und 39

4.2.1.6. Vergleich der Wirkung der zweimaligen mit der viermaligen Vorbehandlung

Werden in den Versuchen Nr. 1 und 3 die vorbehandelten Tiere als eine Gruppe zusammengefaßt, und mit den Kontrollen verglichen, so stellt sich das Infektionsgeschehen wie in Tabelle 12 wiedergegeben dar.

Vorbehandlung	Versuch Nr. 1				Versuch Nr. 3			
	E 68	K 12	Y 1	N	E 68	K 12	Y 1	N
Organe +	88			98	89			98
Darm +	92			93	80			83
Gesamt +	92			98	89			98
gest. Mäuse	-			-	4			5
Anzahl Mäuse	59			40	70			40

Tab. 12: Anteil Salmonella-infizierter Tiere nach zweimaliger (Versuch Nr. 1) und viermaliger Vorbehandlung (Versuch Nr. 3) in %. Die Belastungsinfektion erfolgte nach 10 Tagen mit 10^9 Salmonellen pro Maus, die Untersuchung 6 Tage später. Die Versuchsgruppen E 68, K 12 und Y 1 werden als eine Gruppe zusammengefaßt.

Weitere Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 32 und 39

In beiden Versuchen war die Anzahl der Organinfektionen gegenüber den Kontrollen erniedrigt (Verringerung um 10 % in Versuch Nr. 1 und um 9 % in Versuch Nr. 3). Die Darminfektionsrate lag in Versuch Nr. 1 bei vorbehandelten und bei Kontrolltieren auf vergleichbarem Niveau, in Versuch Nr. 3 hatten die vorbehandelten Tiere geringfügig niedrigere Darminfektionsraten (80 % waren im Darm infiziert gegenüber 83 % der Kontrolltiere). Die Gesamtinfektionsrate lag bei den viermal immunisierten Tieren etwas niedriger als bei den zweimal immunisierten. Bei den viermal vorbehandelten Tieren waren 9 % weniger Tiere infiziert als bei den Kontrollen, bei den zweimal vorbehandelten betrug der Unterschied 6 %. Tierverluste durch Infektion mit Salmonellen traten in Versuch Nr. 1 nicht auf. Die Verlustraten lagen in Versuch Nr. 3 für vorbehandelte Tiere bei 4 % und für die Kontrollen bei 5 %.

4.2.1.7. Übersicht über die Gesamtinfektionsraten nach Belastung mit 10^9 und 10^{10} Salmonellen pro Maus

Abbildung 6 zeigt die Gesamtinfektionsraten der verschiedenen Gruppen der Versuche nebeneinander. Die Versuche Nr. 2 und 5, in denen mit der Dosis 10^{10} Salmonellen pro Maus belastet wurde, lassen keinen Unterschied zwischen vorbehandelten und Kontrolltieren erkennen. Alle Gruppen in diesen beiden Versuchen waren zu 100 % infiziert. Die Versuche Nr. 1, 3 und 4, in denen mit 10 mal weniger Salmonellen pro Maus belastet wurde, lassen dagegen mögliche Effekte einer Vorbehandlung erkennen. Die Infektionsraten waren jedoch auch hier sehr hoch und die Unterschiede der vorbehandelten Tiere zu den Kontrollen gering. Am besten waren in diesen 3 Versuchen die mit *Y. enterocolitica* Y 1 behandelten Tiere vor der Belastungsinfektion geschützt mit gegenüber den Kontrollen 8 - 13 % weniger Infektionen. Bei den mit *E. coli* K 12 vorbehandelten Mäusen betrug der Unterschied 3 - 8 %, und die mit *E. coli* E 68 behandelten waren einmal sogar stärker infiziert als die Kontrollen.

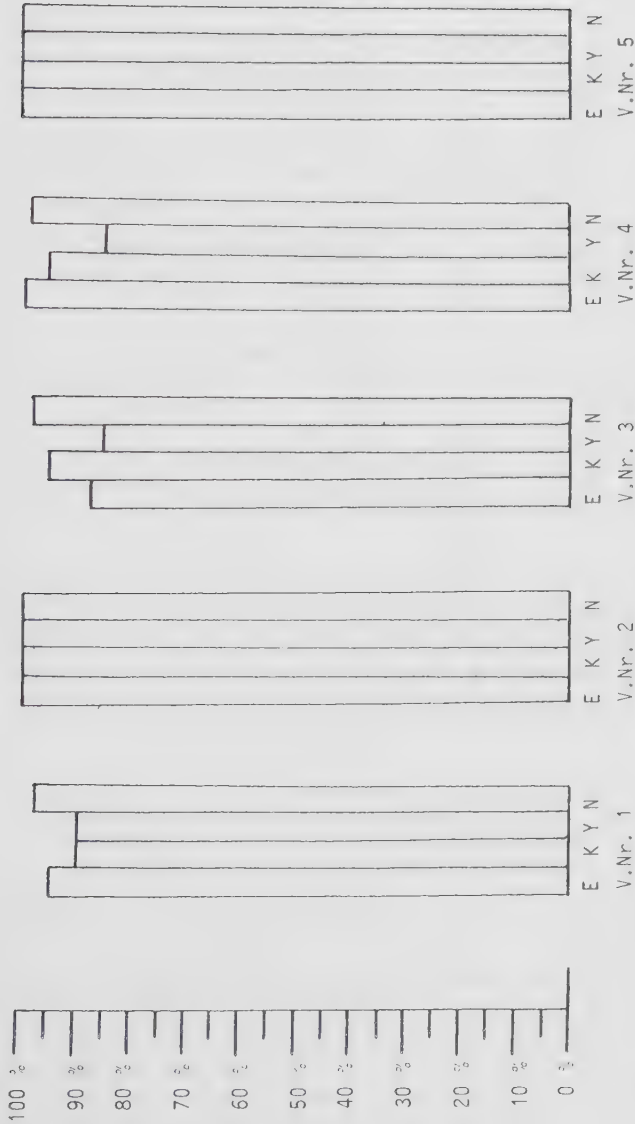


Abb. 6: Übersicht über die Gesamtinfektionsraten in den Versuchen Nr. 1 - 5.

Es werden die Anteile Salmonella-infizierter Tiere in Prozent angegeben.

E = Vorbehandelt mit *E. coli* E 68 K 88

K = Vorbehandelt mit *E. coli* K 12

Y = Vorbehandelt mit *Y. enterocolitica* 10750

N = Vorbehandelt mit Pepton-NaCl

Übersicht über die Konzeption der Versuche siehe Seite 40

4.2.1.8. Salmonella-Nachweis in der Milz und Bewertung des Infektionsgrades anhand der Organkeimzahl

Es zeigte sich, daß innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen die Keimzahl in der Milz großen Schwankungen unterworfen war. Es fanden sich Milzen mit sehr hohen Keimdichten (bis zu 10^7) neben keimfreien oder mit nur wenigen Keimen behafteten. Für die an der Salmonella-Infektion verendeten Tiere sind nach HOBSON (1957) Keimzahlen von 10^8 - 10^9 und mehr anzunehmen. Anhand der auf das ganze Organ umgerechneten Keimzahl wurde eine Bewertung der Schwere der Infektionen vorgenommen. Hierzu wurden mittels bestimmter Keimzahlgrenzwerte 6 verschiedene Infektionsgrade festgelegt, denen dann die Einzeltiere nach ihrer Keimzahl zugeordnet wurden. Dabei umfaßt der Infektionsgrad I keimfreie Milzen und Milzen, die bis zu 10^2 Keime enthalten, der Infektionsgrad II Milzen mit mehr als 10^2 bis zu 10^3 Keimen, der Infektionsgrad III Milzen mit mehr als 10^3 bis zu 10^4 Keimen usw. bis Infektionsgrad VI mit mehr als 10^6 Keimen einschließlich der vor der Sektion verendeten Tiere. Die Ergebnisse dieser Aufteilung sind in Tabelle 13 wiedergegeben.

Deutlich ausgeprägte Unterschiede zwischen den vorbehandelten und den Kontrolltieren sind in keinem der 5 Versuche auszumachen. Betrachtet man die Versuche im einzelnen genauer, so sind zumindest einige Tendenzen erkennbar.

Versuch Nr. (Dosis ..S/M)	Milzinfektionsgrad						Anzahl Mäuse	Milzkeimzahl maximum
	I $0 \leq x \leq 10^2$	II $10^2 < x \leq 10^3$	III $10^3 < x \leq 10^4$	IV $10^4 < x \leq 10^5$	V $10^5 < x \leq 10^6$	VI * $10^6 < x$		
1 E68 K12 Y1 (10^9) N	2 5 4 1	2 4 1 7	7 7 6 17	0 2 2 8	5 1 3 6	3 1 4 1	19 20 20 40	2×10^6 $8,4 \times 10^6$ $2,3 \times 10^7$ $1,6 \times 10^6$
2 E68 K12 Y1 (10^{10}) N	0 0 0 0	0 2 1 2	7 10 5 11	10 1 8 11	2 2 4 3	(1) 3 (1) 6 (2) 3 (3) 7	22 21 21 34	$3,2 \times 10^6$ $2,7 \times 10^6$ $1,5 \times 10^7$ $2,4 \times 10^7$
3 E68 K12 Y1 (10^9) N	7 1 4 6	5 2 1 3	12 8 11 18	3 7 3 6	1 1 0 2	(1) 2 (1) 1 (1) 1 (3) 5	30 20 20 40	1×10^6 $1,7 \times 10^4$ $2,4 \times 10^6$ $4,4 \times 10^6$
4 E68 K12 Y1 (10^9) N	1 4 3 6	3 1 4 5	8 7 8 13	4 6 5 8	4 2 0 6	0 0 0 (1) 2	20 20 20 40	$5,6 \times 10^5$ $3,2 \times 10^4$ $6,4 \times 10^6$ $1,2 \times 10^6$
5 E68 K12 Y1 (10^{10}) N	0 0 0 0	2 3 4 2	10 8 8 25	3 6 3 10	1 0 4 2	4 (2) 3 1 (1) 2	20 20 20 41	$1,2 \times 10^7$ $3,1 \times 10^6$ $3,8 \times 10^6$ $2,6 \times 10^6$

Tab. 13: Bewertung des Milzinfektionsgrades anhand der Milzkeimzahl; Versuche Nr. 1 - 5.

Die Einteilung in Infektionsgrade erfolgte nach den für jeden Infektionsgrad angegebenen Keimzahlgrenzwerten (Keimzahl = x)

* Die unter Infektionsgrad VI angegebene Zahl beinhaltet neben den Tieren mit mehr als 10^6 Keimen/Milz auch die Tiere, die an der Salmonella-Infektion gestorben sind. Ihre Zahl wird zusätzlich noch einmal in Klammern aufgeführt.

Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 32 und Übersicht über die Versuche Nr. 1 - 5 siehe Seite 40

Versuch Nr. 1

Betrachtet man nur die schwachen Infektionsgrade I und II, so heben sich besonders die mit *E. coli* K 12 neben den mit *Y. enterocolitica*-Stamm Y 1 vorbehandelten Gruppen von den Kontrollen durch häufigeres Auftreten ab. Faßt man jedoch die niedrigeren Infektionsgrade bis einschließlich Stufe III ins Auge, so entsteht ein ziemlich einheitliches Bild, in dem lediglich die Tiere der Gruppe K 12 noch mit einem etwas höheren Anteil schwach infizierter Milzen hervortreten. Auch bezüglich der hohen Infektionsgrade V und VI ist die Gruppe K 12 erwähnenswert, die hier nur mit insgesamt 2 Tieren vertreten war. Der Anteil schwerer Infektionen war in den Gruppen E 68 und Y 1 höher als in der Kontrollgruppe.

Versuch Nr. 2

Die höhere Belastungsdosis von 10^{10} Salmonellen pro Maus in Versuch Nr. 2 zeichnete sich durch einen höheren Infektionsgrad aus, was besonders an den Stufen I und II erkennbar war. Infektionsgrad I war gar nicht vertreten, zu Infektionsgrad II zählten nur wenige Tiere. Dies ging einher mit dem in Versuch Nr. 2 durchgehend größeren Anteil schwerer Infektionsgrade und den hier auftretenden Tierverlusten. Zwischen den einzelnen Gruppen traten keine regelmäßigen Unterschiede auf.

Versuch Nr. 3

Anders als in Versuch Nr. 1 waren die mit *E. coli* K 12 vorbehandelten Tiere bei den schwachen Infektionsgraden nur sehr wenig vertreten. Innerhalb der Gruppen E 68 und Y 1 fanden sich gegenüber den Kontrollen nur wenige Tiere mit sehr hohen Keimdichten in der Milz. Ebenfalls waren beide Gruppen in der Kategorie "keimfrei und bis 100 Keime" stärker vertreten als die Kontrollen.

Versuch Nr. 4

Dieser Versuch entspricht Versuch Nr. 1 bis auf den 10 Tage späteren Belastungszeitpunkt. Der in Versuch Nr. 1 beobachtete hohe Anteil schwach infizierter Milzen in der Gruppe K 12 wiederholte sich hier nicht. Ansonsten sind bis auf eine Verschiebung des Bildes in Richtung geringerer Keimzahlen wenig Unterschiede zwischen den beiden Versuchen auszumachen. Zieht man die hohen Infektionsgrade IV, V und VI zusammen, so scheinen die vorbehandelten Tiere die Infektion besser als die Kontrollen bekämpfen zu können. Aus der Häufigkeit der Infektionsgrade I und II ist dies dagegen nicht abzulesen. Bezüglich der schweren Milzinfektionen hatten die Tiere der Gruppe Y 1 die geringsten Anteile, was sich auch in einem relativ niedrigen Keimzahlmaximum ausdrückte.

Versuch Nr. 5

Die Belastungsinfektion erfolgte hier 10 Tage später als in Versuch Nr. 2 bei sonst gleichen Versuchsbedingungen. Das Ergebnis für Infektionsgrad I war für beide Versuche identisch. Unter Infektionsgrad II und III erschienen in Versuch Nr. 5 mehr Tiere als in Versuch Nr. 2. Dies ging einher mit einem in Versuch Nr. 5 geringeren Anteil schwerer Milzinfektionen. Insgesamt läßt dies auf eine bessere Abwehrleistung der Tiere in Versuch Nr. 5 schließen.

4.2.1.9. Milzgewichte in den Versuchen Nr. 1 - 5

Die leichteste aller in den Versuchen Nr. 1 - 5 gewogenen Milzen wog 72 mg, die schwerste 795 mg. Der Mittelwert betrug 251 mg. Das mittlere Gewicht aller nicht mit Salmonellen infizierten Milzen lag bei 133 mg. Dabei war der kleinste gemessene Wert 93 mg, der größte 254 mg. Wie sich die Mittelwerte der Milzgewichte der einzelnen Gruppen verhalten, kann aus Tabelle 14 ersehen werden. Die Standardabweichung der Mittelwerte ist in allen Versuchen sehr hoch.

Die unterschiedlich unspezifisch immunisierten Tiere verhielten sich in den 5 Versuchen nicht einheitlich. Die Versuche Nr. 2 und 5 wiesen die im Durchschnitt höchsten Milzgewichte auf, wobei die Mittelwerte für die einzelnen Gruppen auch enger zusammen lagen als in den anderen Versuchen. In diesen beiden Versuchen wurden die Tiere mit der Dosis 10^{10} Salmonellen pro Maus belastet.

Versuch Nr.	Versuchsgruppen			
	E 68	K 12	Y 1	N
1	222 ⁺ ₋₅₂	182 ⁺ ₋₆₂	210 ⁺ ₋₇₅	224 ⁺ ₋₇₁
2	277 ⁺ ₋₆₆	278 ⁺ ₋₉₄	280 ⁺ ₋₈₅	277 ⁺ ₋₉₃
3	203 ⁺ ₋₆₂	261 ⁺ ₋₈₆	221 ⁺ ₋₅₃	220 ⁺ ₋₄₇
4	269 ⁺ ₋₇₄	236 ⁺ ₋₈₈	222 ⁺ ₋₆₈	250 ⁺ ₋₇₁
5	286 ⁺ ₋₁₄₂	312 ⁺ ₋₉₁	306 ⁺ ₋₁₁₀	297 ⁺ ₋₇₇

Tab. 14: Mittelwerte der Milzgewichte für die Versuche Nr. 1 - 5, Werte in mg. *: +- Standardabweichung. Zur Übersicht über die Versuche Nr. 1 - 5 und zur Erklärung der Versuchsgruppen E 68, K 12, Y 1 und N siehe Seite 39 und 40

4.2.1.10. Salmonella-Nachweis im Darm

Ist der Darm von einer schweren Infektion betroffen, so wird der Erreger bereits im Direktausstrich nachzuweisen sein. Der Anteil an Tieren, bei denen im Direktausstrich eine Darminfektion nachgewiesen wird, kann somit als Hinweis für das Vorliegen schwerer Darminfektionen innerhalb einer Gruppe dienen. Eine leichte Darminfektion wird dagegen in der Regel nicht im Direktausstrich zu erfassen sein. Der Nachweis der Infektion erfolgt dann erst über das Anreicherungsverfahren.

Die Ergebnisse zum Salmonella-Nachweis im Darm sind in Tabelle 15 wiedergegeben. Der Gesamtanteil der Darminfektionen war bei vorbehandelten Mäusen und Kontrollen fast durchgehend gleich. Der Anteil schwerer Darminfektionen war in den 3 Versuchen mit Frühbelastung (Versuche Nr. 1, 2 und 3) bei den vorbehandelten Tieren geringer als bei den Kontrollen (besonders in dem mit *E. coli* E 68 und dem *Y. enterocolitica*-Stamm Y 1 behandelten Gruppen).

Versuch Nr.		E 68	Versuchsgruppen K 12 Y 1 N			E 68 + K 12 + Y 1 + N
1	DIR	26	25	25	40	31
	ANR	95	90	90	93	92
2	DIR	23	52	33	56	43
	ANR	100	100	100	97	99
3	DIR	13	30	15	18	18
	ANR	83	80	75	83	81
4	DIR	30	25	5	25	22
	ANR	90	65	80	75	77
5	DIR	35	25	30	24	28
	ANR	95	100	95	95	96

Tab. 15: Salmonella-Nachweis im Darm; Versuche Nr. 1-5.

Anteil der durch Direktausstrich (DIR) und über Anreicherung (ANR) erfolgten Salmonella-Nachweise in Prozent der jeweiligen Versuchsgruppen

Zur Übersicht über die Versuche Nr. 1 - 5 und zur Erklärung der Versuchsgruppen E 68, K 12, Y 1 und N siehe Seite 39 und 40

Versuch Nr. 1 und 4

Die Darminfektionsrate in Versuch Nr. 1 bewegte sich bei den vorbehandelten wie bei den Kontrolltieren auf annähernd gleichem Niveau. Der Anteil an Tieren mit schweren Infektionen war bei den Kontrolltieren höher als bei den annähernd gleich stark infizierten vorbehandelten Tiergruppen. Bei den später belasteten Tieren in Versuch Nr. 4 ist die geringe Zahl schwerer Darminfektionen bei der mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm Y 1 vorbehandelten Gruppe zu erwähnen. Die mit *E. coli* K 12 vorbehandelte Gruppe wies in diesem Versuch die niedrigste Zahl an Infektionen im Darm auf, lag jedoch gerade hinsichtlich des Anteils heftiger Infektionen im Bereich der anderen.

Versuch Nr. 2 und 5

Bei den mit 10^{10} Salmonellen pro Maus belasteten Tieren in Versuch Nr. 2 wiesen die mit *E. coli* E 68 und *Y. enterocolitica* Y 1 vorbehandelten Gruppen deutlich weniger schwere Darminfektionen auf, als die mit *E. coli* K 12 behandelte Gruppe und die Kontrolltiere N. Dies war bei den später belasteten Tieren in Versuch Nr. 5 nicht mehr zu beobachten. Hier zeichneten sich diese beiden Gruppen sogar durch einen geringfügig höheren Anteil schwerer Infektionen im Darm aus.

Versuch Nr. 3

In Versuch Nr. 3 wurden die Tiere viermal vorbehandelt und nach 10 Tagen mit 10^9 Salmonellen pro Maus infiziert. Der Prozentsatz der Mäuse mit schweren Darminfektionen war in diesem 3. Versuchsdurchgang bei den mit E. 68 und Y 1 vorbehandelten Tieren am niedrigsten; eine Tendenz, die an Versuch Nr. 2 erinnert. Den höchsten Anteil schwerer Darminfektionen wiesen in Versuch Nr. 3 die mit K 12 vorbehandelten Tiere auf.

Feststellung von Darminfektionen unabhängig von den zur Vorbe-
handlung verwendeten Stämmen

Betrachtet man alle Tiere eines Versuchsdurchganges als eine einheitliche Population, so stellt sich das Infektionsgeschehen im Darm wie folgt dar: Die Daten sind Tabelle 15, Seite 64, unter E 68 + K 12 + Y 1 + N zu entnehmen.

Vergleicht man die Versuche Nr. 1 mit 4 und 2 mit 5, in denen nach gleicher Vorbehandlung mit derselben Dosis belastet wurde, so zeigt sich mehr oder weniger deutlich, daß die am 10. Tag belasteten Tiere mehr und stärkere Darminfektionen aufweisen, als diejenigen, die am 20. Tag belastet wurden.

In der weniger stark belasteten Gruppe (Versuch Nr. 1 und 4) haftete bei Belastung am 10. Tag die Infektion bei 92 % der Tiere im Darm gegenüber 77 % bei Belastung am 20. Tag. Bei der hohen Infektionsdosis (Versuch Nr. 2 und 5) erstreckte sich auch im Falle der späteren Belastung die Darminfektion auf fast alle Tiere (96 %). So war der Unterschied zu den früh belasteten Mäusen mit 99 % infizierter Tiere nicht sehr groß. Darüber hinaus ergab sich eine Relation von 31 % (Belastung 10. Tag) zu 22 % (Belastung 20. Tag) beim Anteil schwerer Darminfektionen nach einer Gabe von 10^9 S. typhimurium und eine solche von 43 % (Belastung 10. Tag) zu 28 % (Belastung 20. Tag) bei Applikation von 10^{10} Keimen. Am wenigsten ausgeprägt waren die Infektionen des Darmes in der Gruppe der viermal vorbehandelten Tiere (Versuch Nr. 3), die 10 Tage nach Behandlung belastet wurden. Nur 18 % der Darminfektionen konnten direkt nachgewiesen werden. Ebenso wird die Gesamtzahl der Darminfektionen (81 %) nur von den 20 Tage nach Vorbehandlung mit 10^9 S. typhimurium infizierten Mäusen unterschritten (77 %).

4.2.2. Vorbehandlung und Belastungsinfektion über die Tränke

4.2.2.1. Versuchsablauf

Die Vorbehandlung erstreckte sich über einen Zeitraum von 6 Tagen, in dem die Tiere täglich eine frisch angesetzte Suspension des jeweiligen Impfstammes in ihren Tränkeflaschen erhielten.

Als Impfstämme kamen zur Anwendung ein den Anheftungsfaktor K 88 tragender *E. coli* (O 138 : K 81 : K 88+), ein *E. coli*-Stamm mit den gleichen O- und K-Antigenen jedoch ohne K 88 (K 88-) und ein virulenter Stamm von *Y. enterocolitica* (Y 2). Die Kontrolltiere erhielten steriles Leitungswasser unter Zusatz von 0,1 % Pepton.

10 Tage nach Beendigung der Vorbehandlung erfolgte die Belastungsinfektion durch kontaminiertes Trinkwasser, das pro ml 3×10^7 *S. typhimurium* enthielt. Die Salmonella-haltige Tränke wurde den Tieren über 40 Stunden gegeben.

6 Tage später wurden die Mäuse getötet und auf das Vorkommen von *S. typhimurium* untersucht.

4.2.2.2. Ergebnisse der Salmonella-Infektion bei nicht vorbehandelten Tieren

Die Ergebnisse dieses Infektionsversuchs sind aus Tabelle 16 zu ersehen. Es handelt sich um die im Immunitätsbelastungsversuch mitgeführten Kontrollgruppen. 6 Tage nach Infektion wiesen alle 39 Tiere den *S. typhimurium*-Stamm im Darm und in der Milz auf. Von den Milzinfektionen waren 41 % schwere Infektionen mit hohen Keimdichten, 59 % waren leichtere Infektionen mit geringen Keimdichten (siehe hierzu 4.2.2.4.). 2 Mäuse starben an der Infektion mit *S. typhimurium* (5 %). Die Werte für das Milzgewicht sind unter 4.2.2.5. angegeben.

Das mittlere Gewicht der in dieser Gruppe untersuchten Milzen betrug 317 mg.

Gesamt +	(%)	100
Milz +	(%)	100
Darm +	(%)	100
stark inf. Mi.	(%)	41
schwach inf. Mi.	(%)	59
mittl. Milzgew.	(mg)	317
gest. Mäuse	(%)	5
Anzahl Mäuse		39

Tab. 16: Ergebnisse der Salmonella-Infektion über das Trinkwasser bei nicht vorbehandelten Tieren.

Es handelt sich um die im Immunitätsbelastungsversuch (Versuch Nr. 6) mitgeführte Kontrollgruppe.

Gesamt +	= Gesamtinfektionsrate
Milz +	= Milzinfektionsrate
Darm +	= Darminfektionsrate (vergleiche Seite 77)
stark inf. Mi.	= stark infizierte Milzen und
schwach inf. Mi.	= schwach infizierte Milzen (vergleiche 4.2.2.4., Seite 72)
mittl. Milzgew.	= mittleres Milzgewicht
gest. Mäuse	= Anzahl beziehungsweise prozentualer Anteil der Mäuse, die bis zum Untersuchungstag an der Infektion mit <i>S. typhimurium</i> gestorben sind
Anzahl Mäuse	= Anzahl der Mäuse der Versuchsgruppe

4.2.2.3. Ergebnisse der Salmonella-Infektion bei vorbehandelten Tieren

Fast alle der mit *Y. enterocolitica* Y 2 geimpften Tiere wiesen zum Zeitpunkt der Belastungsinfektion den zur Impfung benutzten Stamm im Darm auf (8 von 10 Mäusen, vergleiche Seite 28). Die beiden *E. coli* (K 88+ und K 88-) konnten zu diesem Zeitpunkt nicht mehr nachgewiesen werden.

Die Infektionsrate ist in Tabelle 17 dargestellt. Ohne Unterschied wurden bei allen Mäusen Salmonellen in der Milz nachgewiesen. Die Gesamtinfektionsrate betrug somit 100 % in allen Versuchsgruppen. Auch im Darm verlief die Infektion fast überall gleich. Lediglich ein Tier in der mit *E. coli* K 88- vorbehandelten Gruppe konnte sich von der Darminfektion befreien.

Anders als bei den Kontrolltieren waren bei den über die Tränke vorbehandelten keine Todesfälle durch Salmonella-Infektion zu beobachten. Unter den Kontrolltieren betrug die Sterberate 5 %.

		Versuchsgruppen			N
		K 88+	K 88-	Y 2	
Gesamt +	(%)	100	100	100	100
Milz +	(%)	100	100	100	100
Darm +	(%)	100	95	100	100
gest. Mäuse	(%)	-	-	-	5
Anzahl Mäuse		20	20	20	39

Tab. 17: Ergebnisse der Salmonella-Infektion über das Trinkwasser bei vorbehandelten Tieren (Versuch Nr. 6).

Versuchsgruppen K 88+ = Die mit E. coli O 138 : K 81 : K 88 unspezifisch immunisierten Tiere.

K 88- = Die mit E. coli O 138 : K 81 unspezifisch immunisierten Tiere.

Y 2 = Die mit Y. enterocolitica 54-2B unspezifisch immunisierten Tiere

N = Die in diesem Versuch mitgeführten Kontrolltiere.

Weitere Erläuterungen zur Tabelle siehe Seite 68

4.2.2.4. Salmonella-Nachweis in der Milz und Bewertung des Infektionsgrades

Als Indikator für einen Übertritt von Salmonellen aus dem Darm in die Organe erwies sich nach den Versuchen Nr. 1 - 5 der Erregernachweis in der Milz als ausreichend sicher, so daß in der hier dargestellten Infektionsreihe auf die Untersuchung der Leber verzichtet wurde (vergleiche Seite 30)

Um die Stärke des Salmonella-Befalls der Milzen beurteilen zu können, wurden jeweils zwei Milzquerschnitte direkt auf Lackmus-Laktose-Agar ausgestrichen. Das gesamte Organ wurde anschließend zur Salmonella-Anreicherung in Selenit-Bouillon verbracht. Anhand der Dichte des Salmonella-Wachstums auf den beiden Ausstrichen wurde eine Einteilung des Infektionsgrades der Milz vorgenommen (Tab. 18).

Inf. grad	Versuchsgruppen			N
	K 88+	K 88-	Y 2	
0	15	5	15	8
1	35	35	50	36
2	20	25	25	15
3	20	20	10	21
4	10	15	0	15
5	0	0	0	5

Tab. 18: Salmonella-Nachweis in der Milz (Versuch Nr. 6).

Einteilung nach den Infektionsgraden 0 - 5.

Die Anteile der Infektionsgrade einer Versuchsgruppe werden in Prozent angegeben.

Bedeutung der Infektionsgrade 0 - 5:

0 = Kein Nachweis von *S. typhimurium* im Direktausstrich, sondern nur durch Anreicherung

1 = Wachstum von weniger als 10 Einzelkolonien von *S. typhimurium* pro Milzausstrich

2 = Wachstum von 10 - 50 Einzelkolonien pro Ausstrich

3 = Wachstum dicht, mit erkennbaren Einzelkolonien

4 = Wachstum sehr dicht, Einzelkolonien zum Teil nicht mehr erkennbar

5 = Wie Infektionsgrad 4, außerdem Tod des Versuchstieres

Zur Bedeutung von K 88+, K 88-, Y 2

und N siehe Seite 70

Die mit den Stämmen *E. coli* K 88+, K 88- und Y.

enterocolitica Y 2 vorbehandelten Gruppen bestanden

jede aus 20 Mäusen, die Kontrollgruppe N aus 39.

Teilt man die Milzinfektionen in zwei Gruppen ein, nach den Kriterien schwach infiziert (Infektionsgrad 0, 1, und 2) und stark infiziert (Infektionsgrad 3, 4 und 5), so entsteht das in Tabelle 19 wiedergegebene Bild.

Inf. grad	Versuchsgruppen			
	K 88+	K 88-	Y 2	N
schwach (0, 1, 2)	70	65	90	59
stark (3, 4, 5)	30	35	10	41

Tab. 19: Anteil schwacher und starker Milzinfektionen in Prozent der jeweiligen Versuchsgruppen (Versuch Nr. 6).
Zur Bedeutung von K 88+, K 88-, Y 2 und N siehe Seite 70
Zur Bedeutung der Infektionsgrade 0 - 5 siehe Seite 72

Wie aus den Tabellen 18 und 19 zu entnehmen ist, waren bei den vorbehandelten Tieren leichtere Infektionsgrade der Milz häufiger vertreten, als bei den Kontrollen. Den geringsten Anteil schwerer Milzinfektionen (Infektionsgrad 3, 4 und 5) wiesen die mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm Y 2 geimpften Mäuse auf (10 %). Bei den Kontrolltieren hatten viermal so viele (41 %) schwere Milzinfektionen, wobei es bei 2 Mäusen im Beobachtungszeitraum von 6 Tagen zu unkontrollierter Keimvermehrung mit Tod des Versuchstieres kam. Der Anteil schwerer Milzinfektionen lag in den mit *E. coli* K 88+ und K 88- geimpften Gruppen bei 30 beziehungsweise 35 %.

4.2.2.5. Milzgewichte

Die Mittelwerte für die einzelnen Versuchsgruppen sind aus Tabelle 20 zu sehen.

Die Mittelwerte der Milzgewichte waren für die Gruppen Y 2 und N mit 315 und 317 mg fast gleich hoch. Mit 289 und 291 mg lagen die Werte der Gruppen K 88+ und K 88- merklich niedriger. Betrachtet man die für jede Versuchsgruppe nach dem Infektionsgrad aufgegliederten Mittelwerte, so werden zwei Tendenzen erkennbar: Zum einen werden mit steigendem Infektionsgrad die Milzen schwerer, zum anderen zeichnen sich innerhalb der Werte für die einzelnen Infektionsgrade immer die mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm Y 2 vorbehandelten Tiere durch die höchsten Milzgewichte aus. Die Tiere der Gruppe Y 2 hatten, obwohl sie von allen Gruppen am wenigsten stark infiziert waren, mit den deutlich stärker infizierten Kontrolltieren die höchsten Milzgewichte gemeinsam.

Inf. grad	K 88+	K 88-	Y 2	N
0	191 (3)* +27***	252 (1)* -	263 (3)* +18	260 (3)* +27
1	267 (7)* +38	246 (7)* +34	287 (10)* +39	279 (14)* +55
2	293 (4)* +60	262 (5)* +28	330 (5)* +51	288 (6)* +104
3	350 (4)* +64	291 (4)* +75	492 (2)* +44	359 (8)* +79
4	388 (2)* +50	457 (3)* +3	-	407 (6)* +84
5	-	-	-	-** (2)*
0, 1 u. 2	258 (14)* +55	253 (13)* +30	295 (18)* +45	279 (23)* +66
3, 4 u. 5	363 (6)* +58	362(7) +104	492 (2)* +44	379 (14)* +81
0 bis 5	289 (20)* +56	291 (20)* +66	315 (20)* +45	317 (37)* +72

Tab. 20: Mittelwerte der Milzgewichte (Versuch Nr. 6).

Angaben in mg. Es erfolgt eine Aufgliederung der Werte nach den Infektionsgraden (vergleiche Tab. 18).

* Anzahl der in die Berechnung des Mittelwertes eingehenden Einzelwerte

** 2 Tiere, für die jedoch kein Meßwert erhoben wurde

*** +- Standardabweichung

Zur Bedeutung von K 88+, K 88-, Y 2 und N siehe Seite 70

4.2.2.6. Salmonella-Nachweis im Darm; Infektion des Dünndarmes und des Rektums

Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 dargelegt. Mit Ausnahme der mit E. coli K 88- vorbehandelten trugen alle Tiere, vorbe-
handelte wie Kontrollen, Salmonellen im Darm. Die Infektions-
rate der Gruppe K 88- war mit 95 % Salmonella-Nachweisen im
Dünndarm und 90 % im Rektum jedoch nur geringfügig niedriger,
als in den anderen Gruppen.

Unterschiede zwischen den Salmonella-Vorkommen in Dünndarm und
Rektum waren unmerklich.

Um die Stärke der Darminfektionen abschätzen zu können, kann
man den Anteil der im Direktausstrich nachgewiesenen Darmin-
fektionen heranziehen. Hier lagen die Werte der vorbehandelten
Tiere besonders bezüglich der Infektion im Rektum unter denen
der Kontrollen, freilich sind die Unterschiede nur gering. Im
Dünndarm war der Anteil schwerer Infektionen bei den Vorbe-
handelten 1 - 6 % geringer als bei den Kontrollen. Im Rektum
wurden in den Gruppen K 88+, K 88- und Y 2 gegenüber den
Kontrollen 8 - 13 % weniger starke Infektionen nachgewiesen.

		K 88+	K 88-	Y 2	N
Dünndarm	DIR %	25	25	20	26
	ANR %	100	95	95	95
Rektum	DIR %	25	20	25	33
	ANR %	100	90	100	100
Darm	%	100	95	100	100
Anzahl Mäuse		20	20	20	39

Tab. 21: Salmonella-Nachweis im Darm (Versuch Nr. 6).

Dünndarm = Salmonella-Nachweis im Dünndarm
 Rektum = Salmonella-Nachweis im Rektum
 Darm = Salmonella-Nachweis im Dünndarm und/oder Rektum
 DIR = Salmonella-Nachweis durch Direktausstrich
 ANR = Salmonella-Nachweis durch Anreicherung
 Anzahl Mäuse = Anzahl der pro Versuchsgruppe verwendeten Mäuse

Zur Bedeutung von K 88+, K 88-, Y 2 und N siehe Seite 70

4.2.3. Synopse

Bei dem Versuch einer Synopse läßt sich feststellen, daß nach einmaliger Belastungsinfektion mit Knopfkanüle die Zahl der darm- und organinfizierten Tiere bei den vorbehandelten Mäusegruppen nicht geringer war als bei den Kontrollen, sofern die Infektionsdosis 10^{10} Keime betrug. Ähnliches trifft für die mit 10^9 *S. typhimurium* infizierten Mäuse zu, soweit sie lediglich zweimal vorbehandelt worden waren und die Infektion am 10. Tage nach Ende der Vorbehandlung vorgenommen wurde. Hier gab es lediglich hinsichtlich der Zahl der Organinfektionen der mit *E. coli* K 12 vorbehandelten Mäusegruppen etwas weniger infizierte Tiere.

In der Gruppe der viermal vorbehandelten Mäuse, für die sonst dieselben Versuchsbedingungen galten wie für die oben erwähnte Gruppe, unterschieden sich die mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm vorbehandelten Mäuse von den Kontrolltieren dadurch, daß bei ihnen Darm und Organe weniger häufig Salmonellen beherbergten. Eine geringere Zahl von Organinfektionen wiesen darüber hinaus die mit dem *E. coli* E 68-Stamm vorbehandelten Mäuse auf. Das Versuchsergebnis bei den erst 20 Tage nach dem Ende der Behandlung mit 10^9 *S. typhimurium*-Keimen belasteten Mäusen ist insofern ähnlich, als auch hier die Gruppe der mit *Y. enterocolitica* vorbehandelten Mäuse durch eine geringere Zahl von Organinfektionen auffiel.

Das Überwiegen der Organinfektionen über die Darminfektionen läßt erkennen, daß es einem Teil der Tiere gelingt, im Darm zum Haften gekommene Salmonellen im Verlaufe von 6 Tagen aus dem Dünndarm wieder zu eliminieren. Diese Feststellung läßt sich jedenfalls für 2 von 3 Versuchen mit der Infektionsdosis 10^9 Keime treffen. Sie setzt allerdings die Annahme voraus, daß die Organinfektion nicht unabhängig von einer Darmbesiedlung infolge von Verletzungen der Schlundschleimhaut bei der Prozedur der gastralen Infektion zustande gekommen ist. Ein durch eine geringere Zahl darm-infizierter Mäuse gekennzeichnetes, regelmäßig günstigeres Abschneiden einer der vorbe-

handelnden Gruppen war dabei nicht zu registrieren. Die Aussage erhält eine etwas andere Tendenz, wenn man den Grad des Infiziertseins in die Betrachtung mit einbezieht. Denn mit Ausnahme des einen Versuches, bei dem 10^{10} Keime am 20. Tag nach Beendigung der Vorbehandlung appliziert wurden, sieht man in allen anderen 4 Versuchsreihen, daß die mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm vorbehandelten Mäuse weniger häufig schwere Darminfektionen aufwiesen als die Kontrollmäuse. In 3 der 4 Versuchsreihen trifft dies auch für mit dem *E. coli*-Stamm E 68 vorbehandelte Mäuse zu und in einer Versuchsreihe sogar für alle vorbehandelten Tiergruppen.

Ähnlich, wie bei der Inaugenscheinnahme der Zahl der organinfizierten Mäuse, ergibt die Betrachtung der Schwere der Infektion der Milz in den beiden Versuchsreihen, in denen die Mäuse 10^{10} Keime als Belastungsinfektion erhalten haben, keinen Unterschied zwischen vorbehandelten und Kontrolltieren. Dagegen wird in den 3 Versuchsreihen, in denen mit 10^9 *S. typhimurium* belastet wurde, zweimal ein geringerer Infektionsgrad der mit *Y. enterocolitica* vorbehandelten Mäusegruppen sichtbar. Darüber hinaus sind, gemessen an dem vermehrten Vorkommen von Milzen mit nur geringen Keimzahlen, in jeweils einer Versuchsreihe verringerte Infektionsgrade auch in den mit dem *E. coli*-Stamm K 12 beziehungsweise E 68 behandelten Mäusegruppen zu registrieren.

Bei der Belastung durch die Zufuhr der *S. typhimurium*-Keime mit dem Trinkwasser ist trotz der präsumptiv als geringer einzuschätzenden Zahl aufgenommener Salmonellen die Stärke des Infektionsdrucks ähnlich hoch anzusetzen wie in den Versuchsreihen mit der Applikation von 10^{10} Keimen durch die Knopfkanüle, wenn man sich an der Zahl der nachgewiesenen Organ- und Darminfektionen orientiert. Diese Feststellung schließt das Fehlen von Unterschieden zwischen vorbehandelten und Kontrolltieren ein. Trotzdem läßt sich bei einer differenzierteren Betrachtung, die die Schwere der jeweiligen

Infektionen mit einbezieht, erkennen, daß vor allem der in diesen Versuchen zur Vorbehandlung benutzte *Y. enterocolitica*-Stamm den Infektionsverlauf modifiziert hat. Die Zahl der schweren, durch Direktkultur nachweisbaren Infektionen des Dünndarms ist bei den so vorbehandelten Mäusen geringer als bei den Kontrollen, und umgekehrt die Zahl der nur schwach ausgeprägten Milzinfektionen deutlich größer. Aber auch die mit den beiden *E. coli*-Stämmen vorbehandelten Mäusegruppen wiesen einige Unterschiede zu den Kontrollen auf. Schwere Infektionen im Bereich des Rektums, wie auch der Milz - hier allerdings mit deutlichem Abstand zur Gruppe der *Y. enterocolitica*-Mäuse - kamen weniger häufig vor. Bei der später vorzunehmenden Bewertung dieser Resultate wird auf die Beobachtung einzugehen sein, daß die mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm vorbehandelten Mäuse höhere Milzgewichte aufwiesen als die Mäuse mit vergleichbaren Infektionsgraden aus den anderen Gruppen.

D BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Durch die hier dargestellten Versuche sollte überprüft werden, ob durch eine unspezifische orale Immunisierung mit vermehrungsfähigen Keimen beim Versuchstier "weiße Maus" eine belastbare Immunität gegen eine Infektion mit *S. typhimurium* induziert werden kann. Die unspezifische Immunisierung erfolgte durch mehrmalige orale Gabe verschiedener *E. coli*- und *Y. enterocolitica*-Stämme. 10 beziehungsweise 20 Tage später wurde die Belastungsinfektion mit *S. typhimurium* ebenfalls auf oralem Wege durchgeführt. Zur unspezifischen Immunisierung, wie auch zur Belastungsinfektion, wurde der orale Weg gewählt, weil die orale Infektion bei der Salmonellose dem natürlichen Infektionsgeschehen näher kommt als die parenterale, und somit die *Salmonella*-Modellinfektion beim Versuchstier "weiße Maus" realistischer gestaltet wird (GERMANIER, 1972; SMITH u. Mitarb., 1979). Außerdem würden die durch orale Immunisierung möglicherweise stimulierten lokalen Abwehrmechanismen im Darm durch parenterale Belastung umgangen, und es wäre auf diesem Wege dann bestenfalls möglich, systemische Effekte der oralen Immunisierung zu untersuchen.

Bei der Suche nach einer geeigneten Dosis für die Immunitätsbelastungsinfektion mit *S. typhimurium* zeigte sich, daß die Infektionsraten im Dosisbereich bis 10^9 Salmonellen pro Maus stark schwankten und nicht sicher vorhersehbar waren. Über eine vergleichbare Inkonzistenz der Infektionsraten im unteren Dosisbereich ($\sim 10^9$ Salmonellen pro Maus) nach Infektion mit *S. minnesota* berichtet ASCHENBRENNER (1982). Auf Schwierigkeiten beim Auslösen einer reproduzierbaren *Salmonella*-Infektion auf oralem Wege wird von verschiedenen Autoren hingewiesen (COLLINS, 1970; COLLINS u. CARTER, 1974; FAHEY u. COOPER, 1970). Die in den eigenen Versuchen zur Herbeiführung einer Infektionshaftung bei möglichst allen Tieren notwendigen Infektionsdosen erreichten mit 10^9 allerdings eine Höhe, die

sich vom natürlichen Infektionsgeschehen entfernte. GERICHTER (1960) und GERMANIER (1972) verwendeten mit 5×10^9 und 10^{11} Keimen pro Maus ähnlich hohe und höhere Dosen zur Erzielung reproduzierbarer Infektionsraten.

Eine wichtige Ursache für die notwendig hohen Keimzahlen stellt sicherlich der Magen mit seinem sauren Milieu als erste ernsthafte Barriere für das Inokulum dar (WELLIVER u. OGRA, 1978). COLLINS (1972) stellt fest, daß 24 Stunden nach intragastraler Applikation von 10^7 S. enteritidis nur noch 1 % der ursprünglichen Bakteriendosis als lebende Keimpopulation aus Wand und Inhalt des Magen-Darm-Traktes nachgewiesen werden kann. Um möglicherweise die Zahl der Keime, die diese Barriere passieren, zu erhöhen, wurden dem Inokulum puffernde Zusätze mitgegeben, oder die Keime wurden in puffernden Lösungen aufgeschwemmt (FAHEY u. COOPER, 1970; HOHMANN u. Mitarb., 1978). Nach COLLINS (1970) hat jedoch die Suspension der Keime in puffernden Lösungen keinen Vorteil über die Verabreichung der Keime in Kochsalzlösung.

Um Einwänden gegen "unrealistisch hohe" Keimdosen zu entgehen, können verschiedene Wege mit dem Ziel, die Mäuse für die Infektion empfänglicher zu machen, gewählt werden. Diese bringen jedoch ebenfalls eine zum Teil sogar erhebliche Entfernung vom natürlichen Infektionsgeschehen mit sich.

Da die residente Keimflora der Versuchstiere eine nicht zu unterschätzende Rolle in der Abwehr oraler Infektionen spielt (DUBOS u. SCHAEGLER, 1960; MILLER u. BOHNHOFF, 1963), wurde versucht, durch gezielte Manipulationen an der Flora die Mäuse für Salmonellen empfänglicher zu machen. Es ist hier in erster Linie die Antibiotika-Behandlung vor der Infizierung zu nennen, die zu Verschiebungen in der Normalflora in Richtung einer erhöhten Empfänglichkeit der Versuchstiere führt (MILLER u. BOHNHOFF, 1963; WALDMAN u. Mitarb., 1972). Die bedeutende Rolle der normalen Darmflora konnte

deutlich durch Verwendung keimfreier Tiere demonstriert werden. Mit weniger als 10 S. enteritidis-Keimen wurde bei keimfreien Tieren eine zu 100 % letale Infektion erreicht, wohingegen bei konventionell gehaltenen SPF-Tieren hierzu fast 10^9 Keime notwendig waren (COLLINS u. CARTER, 1978).

Über den Einfluß von Nahrungs- und Flüssigkeitsentzug vor der Infektion finden sich verschiedene Angaben. FAHEY und COOPER (1970) entzogen den Tieren 2 Tage vor der Infektion das Trinkwasser. In den eigenen Versuchen (siehe Tab. 1, Seite 33) konnte zwischen Tieren mit freiem Zugang zu Wasser und Tieren, die vor der Infektion 24 Stunden gedurstet hatten, kein Unterschied im Infektionsgeschehen festgestellt werden. Dies lag möglicherweise daran, daß die Infektionsdosis so hoch gewählt war, daß in beiden Fällen alle Tiere von der Infektion erfaßt wurden. Eine größere Empfänglichkeit hätte sich nur in einer erhöhten Sterblichkeitsrate ausdrücken können, was jedoch nicht der Fall war. 24-stündiges Hungern der Versuchstiere hat nach GERICHTER (1960) keinen Einfluß auf den Infektionsverlauf. COLLINS (1970) stellt sogar eine Resistenzsteigerung bei den Mäusen fest, die über Nacht gehungert hatten, bevor sie infiziert wurden.

Einen einflußreichen Faktor für das Zustandekommen der Infektionshaftung stellt außerdem die Art der oralen Keimapplikation dar. Die Infektion über das Trinkwasser hat den Vorteil, daß die bei Infektion mittels Knopfkanüle notwendigen Manipulationen am Einzeltier und möglichen Traumatisierungen durch das Einführen der Schlundsonde entfallen. Der Nachteil besteht darin, daß es unmöglich ist, die Dosis pro Einzeltier mit Sicherheit zu bestimmen, beziehungsweise zu 100 % sicherzustellen, daß alle Mäuse gleich viele Salmonellen erhalten (CARTER u. Mitarb., 1975). Ein Einwand, der sicherlich auch für andere Versuche gilt, in denen die Mäuse zur Infektion zum Beispiel über Nacht mit Salmonellen getränktes Brot erhielten (JANDL, 1966; LYMAN u. Mitarb., 1979). Auch

FAHEY und COOPER (1970), die die Mäuse eine bestimmte Menge Salmonella-haltiger Milch über eine Pipette aufnehmen lassen, weisen darauf hin, daß nicht sichergestellt werden kann, daß alle Mäuse die gleiche Zahl Salmonellen erhalten. Die in den Tränkeversuchen (Tab. 3, Seite 37) mit 3 und 7×10^7 Keimen pro ml Trinkwasser erzielten gleichmäßig hohen Infektionsraten machen jedoch wahrscheinlich, daß es über den hier gewählten Infektionszeitraum von 40 Stunden zur Aufnahme einer von Tier zu Tier vergleichbaren Dosis an Salmonellen kommt. Die Aufnahme der Salmonella-haltigen Tränke erfolgte von Anfang an bereitwillig.

Die in dem anderen Teil der Versuche gewählte intragastrale Infektion mittels einer Knopfkanüle wird von verschiedenen Autoren hauptsächlich wegen der Möglichkeit der genauen Dosierung pro Einzeltier vorgezogen (CARTER u. COLLINS, 1974; COLLINS, 1970; COLLINS u. CARTER, 1972; HOHMANN u. Mitarb., 1978; KIRCHNER, 1982). Die Gefahr von Mikroverletzungen im Rachenraum und im Ösophagus durch das Einführen der Knopfkanüle wird - einige Übung des Applizierenden vorausgesetzt - als gering eingeschätzt (KIRCHNER, 1982). COLLINS und CARTER (1972) schließen mögliche Verletzungen durch Verwendung einer Knopfkanüle aus, da sie nach oraler Gabe von *Pasteurella multocida* keine Erkrankungen beobachteten. Schleimhautläsionen hätten bei den Mäusen zu letalen Infektionen geführt. Von Vorteil ist neben der genauen Dosierbarkeit der Infektionsdosis der enge zeitliche Rahmen, in dem die Infizierung eines Mäusekollektives vorgenommen werden kann. Eine beachtliche Streßwirkung geht jedoch sicherlich von den notwendigen Manipulationen am Einzeltier wie Einfangen, Fixieren und Einführen der Schlundsonde aus.

Sowohl bei den Versuchen mit intragastraler Verabreichung der Salmonellen, wie auch bei den Tränkeversuchen zeigte sich, daß offensichtlich eine Art Schwellendosis existiert, die überschritten werden mußte, sollten regelmäßig alle Tiere

einer Gruppe infiziert werden. Unterhalb dieser Dosis war die Infektionsrate nicht sicher vorhersehbar. Vergleichbares berichtet ASCHENBRENNER (1982) von Infektionsversuchen mit *S. minnesota*, in denen diese Schwellendosis ebenfalls in einem sehr hohen Bereich liegt (5×10^{10} Keime pro Maus) und Mac DONALD und CARTER (1980) von *L. monocytogenes*. Wie die eigenen Versuche gezeigt haben, lassen sich beim Überschreiten der Schwellendosis zwar alle oder fast alle Tiere zuverlässig infizieren, doch ist der Infektionsgrad bei den einzelnen Tieren sehr unterschiedlich. Klar tritt die Tendenz zur Besiedlung der Organe Leber und Milz durch *S. typhimurium* hervor. Relativ häufig sogar kann eine Organbesiedlung festgestellt werden, ohne daß gleichzeitig Salmonellen im Darm nachgewiesen werden. Aus den Versuchen von ASCHENBRENNER (1982) ist eine ähnliche Tendenz ablesbar und die Versuche von KIRCHNER (1982) zeigen, daß reine Darminfektionen beim *S. typhimurium*-Stamm DICKEL sogar nur selten vorkommen.

Die Beurteilung der Schwere der Milzinfektion anhand der Keimzahlbestimmung (Versuche Nr. 1 - 5) beziehungsweise anhand von Direktausstrichen der Milz (Versuch Nr. 6) ergab ein ziemlich uneinheitliches Bild mit sehr verschiedenen Infektionsgraden (vergleiche Tab. 13, Seite 59 und Tab. 18, Seite 72). Die meisten Tiere hatten bei Belastung mit 10^9 Salmonellen pro Maus am 6. Tag nach Infektion Keimzahlen von 10^3 bis 10^5 in der Milz. Bei Belastung mit 10^{10} Salmonellen pro Maus verschob sich das Bild in Richtung höherer Keimzahlen, eine Tendenz, die mit der bei 10^{10} Salmonellen pro Maus höheren Zahl darminfizierter Tiere parallel geht. Zu bemerken ist ferner, daß sich ein späterer Belastungszeitpunkt - die Tiere in Versuch Nr. 4 und 5 waren zum Belastungszeitpunkt 10 Tage älter als die Tiere in Versuch Nr. 1, 2 und 3 - in einem tendenziell höheren Anteil geringerer Keimzahlen bemerkbar machte. Es liegt nahe zu vermuten, daß die bessere Abwehrleistung der 10 Tage älteren Tiere ihrem reiferen Immunsystem neben ihrer besseren konditionellen Verfassung zuzuschreiben ist.

KIRCHNER (1982) stellt 6 Tage nach Infektion mit $6,5 \times 10^7$ *S. typhimurium* Keimzahlen von 10^4 - 10^6 fest, bezogen auf 1 g Organgemisch aus Leber, Niere und Milz. COLLINS (1972) gibt an, daß sich die *Salmonella*-Population, die die Leber oder die Milz besiedelt hat, pro Tag etwa um den Faktor 10 vermehrt, bis um den 8. Tag nach Infektion ein Maximum für die Keimzahl erreicht wird (COLLINS, 1970; LINDE, 1981). Die Maxima für die Keimzahlen in der Milz liegen nach COLLINS bei 10^4 - 10^6 nach oraler Infektion und bei 10^6 - 10^8 nach intravenöser Infektion. SZIEGOLEIT (1980) stellt nach oraler Infektion mit *S. typhimurium* für den 4. Tag nach Infektion Keimzahlen für die Milz von 10^4 - 10^5 fest, für den 6. Tag 10^3 - 10^4 mit fallender Tendenz bis auf niedrige Keimzahlen, mit denen einzelne Tiere bis zu einem Jahr infiziert bleiben können. Nach HOBSON (1957) ist bei Organkeimzahlen von 10^8 - 10^9 der Tod der infizierten Tiere zu erwarten.

Bezüglich der Darminfektion durch *S. typhimurium* ist zu bemerken, daß sich die höhere Belastungsdosis in einem höheren Anteil von Darminfektionen, wie auch in einer höheren Zahl schwerer Darminfektionen niederschlägt (vergleiche Tab. 15, Seite 64). Die bezüglich der Schwere der Milzinfektionen bei den 10 Tage später belasteten Tieren (Versuch Nr. 4 und 5) beobachtete bessere Abwehrleistung ist auch bezüglich der Darminfektionen zu erkennen. Die absolute Zahl von Darminfektionen, wie auch die Anzahl schwerer Darminfektionen, war bei den später belasteten Mäusen deutlich niedriger. Die in Versuch Nr. 6 zusätzlich vorgenommene Untersuchung des Rektums bestätigte im wesentlichen das Bild, das die Untersuchung des Dünndarms ergab.

Zur Pathogenese der Systeminfektion nach oraler Applikation von *Salmonellen* gibt es eine Reihe von Erkenntnissen. Nur ein kleiner Teil der intragastral verabreichten Infektionsdosis ist in den ersten Stunden nach Infizierung noch als lebende Keimpopulation im Darm nachweisbar (CARTER u. COLLINS,

1974; COLLINS, 1972). Hauptsächlich im Ileum und im Caecum kommt es zur Vermehrung der Infektionspopulation. Im distalen Drittel des Ileums findet auch die primäre Penetration der Salmonellen durch die Darmwand statt (CARTER u. COLLINS, 1974; CARTER u. Mitarb., 1975). Innerhalb kurzer Zeit folgen die Besiedlung der Mukosa und der Peyer'schen Platten des Ileums, wo sich die Salmonellen vermehren, und wo höhere Keimzahlen erreicht werden (CARTER u. COLLINS, 1974; COLLINS u. CARTER, 1978; HOHMANN u. Mitarb., 1978). Dabei stellt nach RALOVICH und RAUSS (1969) die Vermehrungsfähigkeit der Keime im Wirtsgewebe ein wesentliches Virulenzmerkmal dar.

Von den Peyer'schen Platten ausgehend greift die Infektion schnell auf die drainierenden mesenterialen Lymphknoten über, von wo nach weiterer Vermehrung schließlich ein Übertritt der Salmonellen in die Blutbahn erfolgt, und die Salmonellen den gesamten Organismus überschwemmen (CARTER u. COLLINS, 1974; CARTER u. Mitarb., 1975; HOHMANN u. Mitarb., 1978). HOHMANN und Mitarb. (1978) beobachteten Systeminfektionen nach intragastraler Gabe von Salmonellen auch, ohne daß eine Kolonisierung der Peyer'schen Platten des Dünndarmes stattfindet. Sie folgern daraus, daß es neben dem "üblichen" Weg der Entwicklung einer Systeminfektion via Peyer'scher Platten des Dünndarmes einen weiteren Weg geben muß, der auch von einem anderen primären Infektionsherd ausgeht. Dies wird durch die Versuche von CARTER und COLLINS (1974) unterstützt, die feststellten, daß rektal infizierte Mäuse Systeminfektionen ohne Einbeziehung des Dünndarmes entwickeln konnten. Als möglicher 2. Infektionsherd und damit Ausgangspunkt eines vom Dünndarm unabhängigen Infektionsweges kommt die Salmonella-Population im Caecum in Frage (CARTER u. COLLINS, 1974; COLLINS u. CARTER, 1978; HOHMANN u. Mitarb., 1978).

Die Auffassung, daß ein direkter Übertritt der Salmonellen vom Verdauungstrakt über Kapillarenen in das Blut stattfindet, wird von GERICHTER (1960) vertreten. Er konnte schon

2 - 3 Minuten nach intragastraler Infektion von Mäusen Salmonellen aus dem Herzblut, wie auch aus den Organen Milz, Leber, Niere und Lunge isolieren. Auch SCHLEWINSKI und Mitarb. (1971) konnten schon 15 Minuten nach intragastraler Gabe von Salmonellen diese im strömenden Blut nachweisen, was sie mit dem Phänomen der Persorption erklären. Dies ist nach VOLKHEIMER (1972) der parazelluläre Übertritt großkorpuskulärer Teilchen durch die Schleimhaut des Dünndarmes in das Blut. CARTER und COLLINS (1974) zweifeln die Möglichkeit des Entstehens einer Systeminfektion durch Persorption der Keime nach oraler Belastungsinfektion an, da sie bei Untersuchung bis 1 Stunde nach Infektion in keinem Fall Salmonellen aus dem Herzblut isolieren konnten.

Die Resorption eines kleinen Teils oral aufgenommener Salmonellen über die Mund- und Rachenschleimhaut und die diese Gebiete drainierenden Lymphknoten ist nach CISZAR und Mitarb. (1965 und 1967) als möglicher Infektionsweg bei oraler Infizierung in Betracht zu ziehen und bei den hier zu besprechenden Versuchen besonders für die Tränkeversuche nicht auszuschließen. Nach COLLINS und CARTER (1972) ist eine solche Infektion über den oberen Respirations- und Digestions-trakt bei intragastraler Applikation der Infektionsdosis jedoch nicht zu befürchten.

Das sowohl bei Infektion über das Trinkwasser wie auch nach intragastraler Infektion beobachtete gleichartige Infektionsgeschehen mit sehr hohen Darm- und Organinfektionsraten bei nur geringen Tierverlusten läßt darauf schließen, daß auch bei Infektionen über das Trinkwasser Systeminfektionen durch das Eindringen von Salmonellen über die Mund- und Rachenschleimhaut sehr wahrscheinlich nicht stattgefunden haben.

Der Ausgang der Versuche zur unspezifischen Immunisierung hat erkennen lassen, daß durch die orale Vorbehandlung der Mäuse mit verschiedenen Enterobacteriaceen-Stämmen ein regelmäßig

vorhandener deutlicher Schutz vor einer Salmonella-Infektion nicht aufgebaut werden konnte. Die Stichhaltigkeit dieser Feststellung ist allerdings belastet durch die bei dem von mir verwendeten Mäusestamm bestehenden erheblichen Unterschiede der natürlichen Resistenz gegenüber dem Haften einer oralen Salmonella-Infektion. Um 90 bis 100 % der nicht vorbehandelten Tiere auf oralem Wege zu infizieren, bedurfte es bei einer einmaligen Keimapplikation enorm hoher Infektionsdosen von mindestens 10^9 S. typhimurium Keimen. In den so infizierten Gruppen befand sich aber ein Anteil von 40 bis 50 % der Tiere, der bereits mit 10^7 Keimen infiziert werden konnte. Zusätzlich gab es einen wechselnden Anteil von Mäusen, der zusammen mit den vorerwähnten bis zu 90 % betragen konnte und sich mit 10^8 S. typhimurium Keimen infizieren ließ. Offenbar bestimmten physiologische Gegebenheiten, welchen Anteil diese Mäusegruppe erreichte.

Für diese Tiere war die gewählte Dosis von 10^9 oder 10^{10} Keimen zweifellos stark überhöht, was die Annahme rechtfertigt, daß dagegen selbst eine durch die unspezifische Immunisierung deutlich gesteigerte Infektionsabwehrbereitschaft wenig hätte ausrichten können. Andererseits kommt man nicht um die Feststellung herum, daß bei dem verwendeten Mäusestamm die durch wechselnde physiologische Zustände mitbestimmte natürliche Abwehrlage der einzelnen Tiere gegen die Salmonella-Infektion so hochgradig unterschiedlich war, daß die durch die unspezifische orale Immunisierung erreichbare Steigerung der Fähigkeit zur Infektionsabwehr - soweit sie in diesem Modell zutage trat - demgegenüber in einer unbedeutenden Größenordnung verblieb.

Die 40 Stunden andauernde Keimzufuhr über das Trinkwasser hatte im Vergleich zur einmaligen Keimapplikation den Vorzug, daß alle Tiere mit weniger hohen Keimzahlen zuverlässig infiziert werden konnten. Unter Zugrundelegung einer täglichen Wasseraufnahme frisch abgesetzter Mäuse von 4 ml waren es etwa

2,4 bis $5,6 \times 10^8$ *S. typhimurium* Keime, die bei allen Mäusen zu einem Haften der Infektion führten (Tab. 3). Vermutlich waren die vorauszusetzenden physiologischen Einflüsse, die bei einmaliger Keimgabe die Infektionshaftung verhindern konnten, nur kurzfristig aktiv und haben sich bei der 40 Stunden andauernden Keimzufuhr nicht infektionshemmend auswirken können. Der Umfang der Voruntersuchungen zur Überprüfung der infizierenden Wirkung von mit dem Trinkwasser verabreichten *S. typhimurium* Keimen war nun allerdings nicht groß genug, um beurteilen zu können, ob der Infektionsdruck innerhalb 40 Stunden verabreichter schätzungsweise 4×10^8 *S. typhimurium* Keime geringer war, als der einer Gabe von 10^9 oder 10^{10} Keimen durch die Knopfkanüle. Orientiert man sich an der Zahl der Darm- und Organinfektionen, so ist dieser ähnlich hoch anzusetzen. Zusammenfassend wird man feststellen müssen, daß das ursprünglich mit besonderem Interesse bedachte Teilziel der Untersuchung, das darin bestand, den Einfluß der oralen Vorbehandlung mit nicht pathogenen Enterobacteriaceen auf das Haften einer nachfolgenden Salmonella-Infektion im Bereich des Darmtraktes zu überprüfen, mit dem zur Verfügung stehenden Mäusestamm nicht erreichbar war. Man kann jedoch versuchen, die weniger schweren Darminfektionen als Parameter für das Vorhandensein gesteigerter Abwehrkräfte im Darmbereich heranzuziehen. Am ehesten dürfte daneben die vergleichende Betrachtung von Häufigkeit und Intensität der Organinfektionen die Möglichkeit bieten, eine durch die Vorbehandlung gesteigerte Infektionsabwehr zu erkennen, da sich hierin die Fähigkeit der Versuchstiere ausdrückt, im Darmtrakt vorhandene Salmonellen am Überschreiten der Darmschranke zu hindern.

Bei einem solchen Vorgehen kann man feststellen, daß die Vorbehandlung mit *Y. enterocolitica*, und zwar sowohl mit dem plasmidlosen Stamm 10750 wie auch mit dem plasmidtragenden Stamm 54-2B den Verlauf der Belastungsinfektion fast stets modifiziert hat. Lediglich in der Versuchsreihe 5, in der

10¹⁰ *S. typhimurium* Keime am 20. Tag nach Ende der Vorbehandlung zur Belastung appliziert worden waren, war ein Effekt nicht festzustellen. Aber auch nach Vorbehandlung mit den anderen Stämmen sind solche Modifikationen beobachtet worden, allerdings weder regelmäßig noch so ausgeprägt. Im Versuch Nr. 1 sind schwere Darminfektionen in allen vorbehandelten Gruppen weniger häufig aufgetreten als in der Kontrollgruppe. In der mit dem *E. coli*-Stamm K 12 vorbehandelten Gruppe gab es darüber hinaus weniger Organinfektionen sowie geringere Organkeimzahlen als bei den Kontrollen. Der *E. coli*-Stamm E 68 ist mehrmals als ein den Infektionsverlauf modifizierender Keim in Erscheinung getreten. Dies trifft für die Versuchsreihe Nr. 2 zu, wo schwere Darminfektionen weniger häufig vorkamen als bei den Kontrollen sowie für die Versuchsreihe Nr. 3. Hier waren Zahl und Schwere der Darminfektion wie auch die Zahl der in den Organen nachzuweisenden *S. typhimurium* Keime geringer als bei den Kontrollen. Schließlich traten in dem Versuchsabschnitt, in dem Vorbehandlung und Belastungsinfektion über das Trinkwasser erfolgten, schwere Darminfektionen im Rektum auch bei den mit den beiden *E. coli*-Stämmen vorbehandelten Gruppen weniger häufig auf als bei den Kontrollen, und bei den Mäusen dieser Gruppen waren häufiger als bei den Kontrollen schwache Infektionsgrade in der Milz zu verzeichnen. Ob den dabei sichtbar gewordenen geringen Unterschieden zugunsten des K 88-Antigen tragenden Stammes eine aktuelle Tendenz zu Grunde liegt, muß offen bleiben.

Die Interpretation der Frage, warum gerade die mit *Y. enterocolitica* vorbehandelten Tiere am ehesten Auswirkungen der Vorbehandlung im Sinne einer unspezifischen Immunisierung erkennen lassen, erscheint für den Tränkeversuch, in dem mit einem virulenten *Y. enterocolitica*-Stamm gearbeitet wurde, leichter als für die anderen Versuche mit dem avirulenten Stamm. Der virulente Impfstamm war zum Zeitpunkt der Belastungsinfektion noch bei 80 % der Tiere im Darm nachweisbar, wogegen der avirulente Stamm im Darm der Mäuse nicht haftete.

Die Belastungsinfektion mit *S. typhimurium* stellt also für die mit dem virulenten *Y. enterocolitica*-Stamm vorbehandelten Tiere eine Sekundärinfektion dar. Die Darmbesiedlung durch *Yersinien* bewirkte bei den Mäusen allerdings keine Verschiebungen in der Darmflora im Sinne von ABRAHAMS und BISHOP (1966), DUBOS und SCHAEGLER (1960) oder MILLER und BOHNHOFF (1963) dergestalt, daß eine Darmbesiedlung durch *S. typhimurium* hätte verhindert werden können, oder daß die Tiere empfänglicher geworden wären. Ein Übertritt der *Salmonellen* aus dem Darm in die Organe konnte, wie auch die Darmbesiedlung selbst, nicht verhindert werden.

Daß die beobachteten modifizierenden Wirkungen auf den Verlauf der *Salmonella*-Infektion und das hohe Milzgewicht einem Übertritt der *Yersinien* aus dem Darm in die Organe zuzuschreiben wäre, kann mit Sicherheit ausgeschlossen werden, da eine Organinfektion durch den verwendeten *Y. enterocolitica*-Stamm in meinen Versuchen nicht festgestellt wurde und nach den Versuchen von HAMMERSCHMIDT (1983) auch nicht zu erwarten ist. Mit 315 mg glich das mittlere Milzgewicht der mit *Y. enterocolitica* vorbehandelten Tiere im 2. Versuchsabschnitt (Versuch Nr. 6) dem Wert der wesentlich stärker infizierten Kontrollen und lag deutlich über den Werten der anderen Gruppen, die im Mittel 278 und 293 mg erreichten. Die Ursache könnte in dem anhaltenden Antigenkontakt des Immunsystems der *Yersinia*-infizierten Mäuse zu suchen sein. Mit dieser Überlegung steht die Feststellung in Einklang, daß im ersten Versuchsabschnitt ein im Vergleich zu den übrigen Tieren erhöhtes Milzgewicht bei den mit dem *Y. enterocolitica*-Stamm vorbehandelten Mäusen nach der Belastungsinfektion nicht vorlag. Der hier gebrauchte plasmidlose *Y. enterocolitica*-Stamm vermochte nicht im Darm zu persistieren.

Ansonsten bestätigte die Feststellung der Milzgewichte den offensichtlich engen Zusammenhang zwischen dem Milzgewicht und dem Infektionsgeschehen, der auch aus den Versuchen

von KIRCHNER (1982) hervorgeht. Das Milzgewicht infizierter Tiere lag deutlich über dem von nicht infizierten.

Das gegenüber den anderen Impfstämmen etwas bessere Abschneiden der beiden *Y. enterocolitica*-Stämme hängt möglicherweise mit Verwandtschaften zwischen Fimbrien-Antigenen zusammen, die zwischen *Y. enterocolitica*- und *S. typhimurium*-Stämmen beobachtet werden können. ALEKSIĆ und Mitarb. (1978) untersuchten die Antigen-Verwandtschaften von Fimbrien verschiedener *Salmonella*-Subgenera im Vergleich zu *Y. enterocolitica* und stellten dabei Identität der Typ-I-Fimbrien (common fimbriae = common pili) von *S. typhimurium*-Stämmen mit den Fimbrien von *Y. enterocolitica* fest. Fimbrien, die nach DUGUID und Mitarb. (1976), KOHN (1981) und TANAKA und KATSUBE (1978) eine wichtige Rolle beim Zustandekommen - und damit möglicherweise auch bei der Induktion der Abwehr - oraler Infektionen spielen, werden bei einem sehr hohen Prozentsatz von *S. typhimurium*-Stämmen nachgewiesen (DUGUID u. Mitarb., 1976; KOHN, 1981).

Darüber hinaus kommen sowohl für die *Y. enterocolitica*- wie auch für die *E. coli*-Stämme mögliche Antigen-Gemeinsamkeiten mit *S. typhimurium* in Frage, die unter Umständen einen gewissen Grad an Schutz vor oraler Infektion zu vermitteln in der Lage sind. Hier wäre nach RAETTIG und MARQUARDSEN (1970) und RAETTIG (1979) an ein vielen *Enterobacteriaceen* gemeinsames hitzebeständiges Antigen zu denken. BARBER und EYLAN (1975 und 1976) weisen darauf hin, daß ein heterologer Impfschutz gegen *Salmonella*-Infektion durch verwandten Bakterien gemeinsame Protein-Antigen-Determinanten getragen sein könnte. BLOCK und Mitarb. (1978) konnten aus der Wand gram-negativer Bakterien ein apolares Lipid extrahieren, dem sie eine Schutzwirkung vor Infektionen mit *S. typhimurium* und *E. coli* zuschreiben. Grundlage des Schutzes ist nach BLOCK und Mitarb. (1978) die Stimulierung verschiedener Abwehrmechanismen des Wirtes wie die Phago-

zytoserate (gemessen an Peritonealmakrophagen von NMRI-Mäusen) und die Aktivierung von B-Lymphozyten (gemessen an der Zahl Plaque bildender Zellen in der Milz). Die Zahl von Belastungskeimen im Blut wie auch in Leber und Milz war nach Vorbehandlung erniedrigt.

Dies leitet über zu der Frage, warum in den vorliegenden Versuchen die Resistenzmechanismen des Wirtes - selbst, wenn sie durch die Vorbehandlung stimuliert wurden - nicht in der Lage waren, das Haften der Salmonella-Infektion im Darm zu verhindern. Als einer der Hauptträger der unspezifischen Abwehr oraler Infektionen wird die Phagozytoseaktivität der Mikro- und Makrophagen genannt (KIRCHNER, 1982; MAYR, 1982; RAETTIG, 1979). Nun ist es gerade für diese Komponente der Wirtsabwehr vorstellbar, daß eine - auch eine unspezifisch stimulierte - Abwehrfront des Wirtes von der enormen Zahl der zur Infizierung gegebenen Keime einfach überrannt wird, und daß die Phagozytose- und Abtötungsfähigkeit der Mikro- und Makrophagen des Wirtes durch die vielen Salmonellen erschöpft ist. Die Wirtsabwehr wäre in einem wesentlichen Teil so sehr geschwächt, daß ein Haften der Keime im Darm und eine Überschwemmung des gesamten Organismus nicht mehr verhindert werden könnte.

ASCHENBRENNER (1982) zieht zur Erklärung nur undeutlich erkennbarer Immunitätsbildung nach Immunisierung mit *S. minnesota*-Rauhmutanten unter anderem eine durch die hohe Belastungsdosis (5×10^{10} *S. minnesota* pro Maus) mögliche Blockierung des Abwehrsystems durch Endotoxine heran.

Des weiteren bleibt die Frage zu stellen, ob gerade im Falle der Salmonellose eine lediglich auf die lokale Abwehrsteigerung im Darm abzielende Vorbehandlung ausreichen kann, um die Infektionshaftung oder zumindest den Obertritt der Keime in die Organe zu verhindern. Lebende Keime stimulieren die Wirtsabwehr und besonders die Makrophagentätigkeit zwar mehr als

Totimpfstoffe (TOMITA u. Mitarb., 1981), doch kann von den zur Immunisierung benutzten Keimen, wie aus den nachfolgend angeführten Befunden erhellt, kein effektiver Impfschutz erwartet werden, geht der Belastungsinfektion nicht eine deutlich ausgeprägte Impfinfektion voraus, was bei den hier verwendeten *E. coli*- und *Y. enterocolitica*-Stämmen nicht der Fall war. HOHMANN und Mitarb. (1979) stellen aus ihren Ergebnissen eine positive Korrelation zwischen oraler Immunogenität (gemessen an Darm- und Serumantikörpern) und der Fähigkeit der Impfkkeime in den Peyer'schen Platten zu persistieren her. COLLINS und Mitarb. (1966) beobachten sogar eine Abhängigkeit des Grades der Schutzwirkung von der Größe der Restpopulation der Impfkkeime in den Organen Leber und Milz. Die mit den Impfkkeimen stärker infizierten Mäuse erwiesen sich als resistenter. Die erworbene Resistenz gegen *Salmonella*-Infektion bleibt nur so lange belastungsfähig, wie die Impfkkeime im Organismus überleben (BLANDEN u. Mitarb., 1966; COLLINS, 1968 und 1971; MACKANESS u. Mitarb., 1966). Der Schutz wird durch den Status einer "Infektions-Immunität" aufrechterhalten (COLLINS, 1974). Die Versuche von LINDE (1981) bestätigen die Beziehung zwischen quantitativer Impfkkeimpersistenz im Wirt und dem Grad an Schutz vor oraler Belastungsinfektion durch *Salmonella* im Sinne von COLLINS. Verringert sich die Impfkkeimpopulation in den Organen des Wirtes, so nimmt auch der Schutz vor Infektion rapide ab.

Im Licht der zum gleichen Thema publizierten Literatur deuten die angeführten Befunde trotz ihrer beschränkten Aussagekraft darauf hin, daß durch eine nicht-erregerspezifische Immunisierung alleine, selbst, wenn die hierzu verwendeten Keime potente Immunstimulantien darstellen, das Haften einer oralen *Salmonella*-Infektion nicht verhindert werden kann.

E.

ZUSAMMENFASSUNG

Am Versuchstier "weiße Maus" wurde der Einfluß einer oralen Vorbehandlung mit lebenden Keimen aus der Familie der Enterobacteriaceen zur Steigerung der Abwehr einer oralen Infektion mit *S. typhimurium* überprüft. Es wurden zwei *Y. enterocolitica*-Stämme und vier *E. coli*-Stämme verwendet, von denen zwei "K 88"-Anheftungsfaktoren aufwiesen.

Im ersten Versuchsabschnitt wurden diese Keime über eine Knopfkanüle intragastral verabreicht, im zweiten Versuchsabschnitt über das Trinkwasser. Die anschließende orale Belastungsinfektion erfolgte mit mindestens 1×10^9 Salmonellen 10 beziehungsweise 20 Tage nach Abschluß der Vorbehandlung, nachdem zuvor festgestellt worden war, daß derartig hohe Keimdosen benötigt wurden, um 90 bis 100 % der Mäuse zu infizieren.

Das Haften der *Salmonella*-Infektion wurde durch die Vorbehandlung in keinem Fall verhindert. Es konnte aber eine Modifikation des Infektionsverlaufes bei den vorbehandelten Mäusen beobachtet werden. Diese äußerte sich in einer größeren Zahl lediglich geringgradiger Darminfektionen (Erregernachweis nur durch das Anreicherungsverfahren), einer geringfügig verminderten Zahl von organinfizierten Tieren und einer gelegentlich geringeren Erregerzahl in der Milz 6 Tage nach der Belastungsinfektion. Solche Modifikationen des Infektionsverlaufes ergaben sich sowohl bei den zur Vorbehandlung benutzten *Y. enterocolitica*-Stämmen als auch bei den *E. coli*-Stämmen, bei den letzteren jedoch in geringerer Häufigkeit und Intensität.

F. — SUMMARY

In the investigation presented above the influence of a procedure to enhance the resistance to an oral infection with *S. typhimurium* was studied using the white mouse as a model. This procedure consisted in an oral pretreatment with live bacteria of the family Enterobacteriaceae. Two strains of *Y. enterocolitica* and four strains of *E. coli* were used out of which two of the latter bore the "K 88" colonization factor.

In the first part of the investigation these strains were administered intragastrically by means of a blunt-ended needle in the second part via the drinking water. The challenge infection followed 10 or 20 days after the pretreatment with at least 10^9 *S. typhimurium* after such high dosages had been determined to be necessary to infect between 90 and 100 % of the mice.

None of the pretreatments was able to prevent adhesion of the challenging *Salmonella* infection, but a modification of the course of infection was observed in the group of pretreated mice. This could be measured in a larger proportion of only slight infections of the gut (infections only detectable from enrichment cultures), in a slightly lower infection rate of liver and spleen and in occasionally lower numbers of bacteria isolated from the spleen six days after the challenge infection. Such alterations in the course of infection were found in using the *Y. enterocolitica* as well as using the *E. coli* strains for pretreatment. However, this could be observed with lower incidence and lesser intensity in the latter strains.

G. LITERATURVERZEICHNIS

ABRAHAMS, G. u. J.E. BISHOP

Effect of the normal microbial flora on the resistance of the small intestine to infection

J. Bact. 92, 1604-1608 (1966)

ALEKSIĆ, S., R. ROHDE u. V. ALEKSIĆ

Serologische Verwandtschaft der Fimbrienantigene bei Salmonella Subgenus I - *Yersinia enterocolitica* einerseits und Salmonella Subgenus II - Arizona (= Salmonella Subgenus III) andererseits

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 241, 418-426 (1978)

ASCHENBRENNER, Elke

Versuche an weißen Mäusen zur Erzielung eines Schutzes vor der Salmonella-Infektion durch orale Immunisierung mit lebenden Keimen unter Verwendung von *S. minnesota*-Rahmutanten

Vet. med. Diss. Berlin (1982)

BARBER, C. u. E. EYLAN

Heterologous protections in experimental salmonellosis

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 230, 452-457 (1975)

BARBER, C. u. E. EYLAN

Cross-protection induced in mice by immunizations with proteins of related bacteria species (Salmonella)

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 234, 46-52 (1976)

BARNES, E.M., S.S. IMPEY u. D.M. COOPER

Competitive exclusion of Salmonellas from newly hatched chick

Vet. Rec. 106, 61 (1980)

BLANDEN, R.V., G.B. MACKANESS u. F.M. COLLINS

Mechanisms of acquired resistance in mouse typhoid

J. Exp. Med. 124, 585-600 (1966)

BLOCK, L., A. GEORGOPOULOS, P. MAYER u. J. DREWS

Non-specific resistance to bacterial infections
enhancement by ubiquinone 8

J. Exp. Med. 148, 1228-1240 (1978)

CARTER, P.B. u. F.M. COLLINS

The route of enteric infection in normal mice

J. Exp. Med. 139, 1189-1203 (1974)

CARTER, P.B., J.B. WOOLCOCK u. F.M. COLLINS

Involvement of the upper respiratory tract in orally
induced Salmonellosis in mice

J. Infect. Dis. 131, 570-574 (1975)

CISZAR, V., S. PUSZTAI, J. TAKACS u. L. TAMAS

Oral-parenterale exklusiv pharyngotonsilläre Infektions-
versuche mit *S. typhimurium* an einigen Haustierarten

Arch. Lebensmittelhyg. 16, 145-147 (1965)

CISZAR, V., S. PUSZTAI, J. TAKACS u. L. TAMAS

Oral-parenterale exklusiv pharyngotonsilläre Infektions-
versuche mit *S. typhimurium* an Rhesus-Affen

Arch. Lebensmittelhyg. 18, 148-150 (1967)

COLLINS, F.M.

Recall of immunity in mice vaccinated with *S. enteritidis*
or *S. typhimurium*

J. Bact. 95, 2014-2021 (1968)

COLLINS, F.M.

Immunity to enteric infection in mice

Infect. Immun. 1, 243-250 (1970)

COLLINS, F.M.

Mechanisms in antimicrobial immunity

J. Reticuloendothel. Soc. 10, 58-99 (1971)

COLLINS, F.M.

Salmonellosis in orally infected specific pathogen-free C 57 B 1 mice

Infect. Immun. 5, 191-198 (1972)

COLLINS, F.M.

Vaccines and cell-mediated immunity

Bact. Rev. 38, 371-402 (1974)

COLLINS, F.M. u. P.B. CARTER

Comparative immunogenicity of heat-killed and living oral Salmonella vaccines

Infect. Immun. 6, 451-458 (1972)

COLLINS, F.M. u. P.B. CARTER

Cellular immunity in enteric disease

Am. J. Clin. Nutr. 27, 1424-1433 (1974)

COLLINS, F.M. u. P.B. CARTER

Growth of Salmonellae in orally infected germfree mice

Infect. Immun. 21, 41-47 (1978)

COLLINS, F.M., G.B. MACKANESS u. R.V. BLANDEN

Infection-immunity in experimental Salmonellosis

J. Exp. Med. 124, 601-619 (1966)

DICKEL, H.

Zur Bekämpfung der Salmonellose in Kälbermastbeständen

Dtsch. Tierärztl. Wschr. 83, 320-324 (1976)

DRÄGER, H.

Salmonellosen

Akademie Verlag, Berlin (1971)

DUBOS, R.J. u. R.W. SCHAEGLER

The effect of the intestinal flora on the growth rate of mice, and on their susceptibility to experimental infections

J. Exp. Med. 111, 407-417 (1960)

DUGUID, J.P., M.R. DAREKAR u. D.W.F. WHEATER

Fimbriae and infectivity in *Salmonella typhimurium*

J. Med. Microbiol. 9, 459-473 (1976)

FAHEY, K.J. u. G.N. COOPER

Oral immunization against experimental Salmonellosis. I. Development of temperature-sensitive mutant vaccines

Infect. Immun. 1, 263-270 (1970)

GERICHTER, C.B.

The dissemination of *S. typhi*, *S. paratyphi* A and *S. paratyphi* B through the organs of the white mouse by oral infection

J. Hyg. 58, 307-319 (1960)

GERMANIER, R.

Immunity in experimental Salmonellosis. 3. Comparative immunization with viable and heat-inactivated cells of *Salmonella typhimurium*

Infect. Immun. 5, 792-797 (1972)

HAMMERSCHMIDT, W.

Persönliche Mitteilung (1983)

HOBSON, D.

The behaviour of a mutant strain of *S. typhimurium* in experimental mouse typhoid

J. Hyg. 55, 322-333 (1957)

HOF, H. u. H. FINGER

Das Problem der oralen Immunisierung

Immun. Infekt. 2, 63-68 (1974)

HOF, H., H. FINGER, L. KÖRNER u. L. MILCKE

Effectiveness of orally administered *Bordetella pertussis* vaccine in mice

Dev. Biol. Stand. 33, 47-53 (1976)

HOHMANN, A.W., G. SCHMIDT u. D. ROWLEY

Intestinal colonization and virulence of *Salmonella* in mice

Infect. Immun. 22, 763-770 (1978)

HOHMANN, A.W., G. SCHMIDT u. D. ROWLEY

Intestinal and serum antibody responses in mice after oral immunization with *Salmonella*, *Escherichia coli*, and *Salmonella*-*Escherichia coli* hybrid strains

Infect. Immun. 25, 27-33 (1979)

JANDL, G.

Probleme des Immunmechanismus bei der oralen Typhus-Immunsierung

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 198, 179-181 (1965)

JANDL, G.

Experimentelle Untersuchungen zum Mechanismus der oralen Typhus-Immunsierung. II. Mitteilung

Z. Med. Mikrobiol. Immunol. 152, 211-215 (1966)

KIRCHNER, A.

Eine Untersuchung an weißen Mäusen über die Wirkung der oralen Immunsierung mit hitzeinaktivierten Keimen eines *S. typhimurium*-Stammes auf allgemeine und lokale Immunitätsmechanismen und auf die Entwicklung der Infektionsresistenz

Vet. med. Diss. Berlin (1982)

KIUPEL, H., H. DORRLING u. R. NOEL

Zur *Salmonella*-typhimurium-Infektion des Rindes unter besonderer Berücksichtigung der Epizootologie

Mh. Vet. Med. 34, 321-327 (1979)

KOHN, H.

Neue Erkenntnisse über Virulenzeigenschaften der Salmonellen

Mh. Vet. Med. 36, 934-937 (1981)

LINDE, K.

Hochimmunogene Salmonella-Mutanten mit zwei unabhängig voneinander attenuierenden Markern als potentielle Impfstoffe aus vermehrungsfähigen Bakterien. I. Mitteilung: Eignung der Purin-Auxotrophie für die Herstellung hochimmunogener, stabiler Doppelmarker-Stämme

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 249, 203-214 (1981)

LYMAN, M.B., B.A. STOCKER u. R.J. ROANTREE

Evaluation of the immune response directed against the Salmonella factors 04,5 and 09

Infect. Immun. 26, 956-965 (1979)

Mac DONALD, T.T. u. P.B. CARTER

Cell-mediated immunity to intestinal infection

Infect. Immun. 28, 516-523 (1980)

MACKANESS, G.B., R.V. BLANDEN u. F.M. COLLINS

Host-parasite relations in mouse typhoid

J. Exp. Med. 124, 573-583 (1966)

MAYR, A.

Panoramawechsel und neue polyvalente Verfahren zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten

Tierärztl. Umschau 32, 511-535 (1977)

MAYR, A.

Entwicklung neuer Immunisierungs- und Paramunisierungsverfahren in der Tiermedizin

Blauen Hefte 60, 494-510 (1979a)

MAYR, A.

Erfahrungen mit dem Paramunitätsinducer PIND-AVI in der Tiermedizin

Prakt. Tierarzt 60, 35-40 (1979b)

MAYR, A.

Lokale Immunisierung und Paramunisierung: Neue Perspektiven für die Praxis

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 417-420 (1980)

MAYR, A.

Paramunität und Paramunisierung

Zbl. Vet. Med. B 29, 5-23 (1982)

MILLER, C.P. u. M. BOHNHOFF

Changes in the mouse's enteritic microflora associated with enhanced susceptibility to Salmonella infection following streptomycin treatment

J. Infect. Dis. 113, 59-66 (1963)

NURMI, E. u. M. RANTALA

New aspects of Salmonella infection in broiler production

Nature 241, 210 (1973)

NURMI, E. u. C. SCHNEITZ

Effect of artificial development gut flora

Fortschritte Vet. Med., Heft 33, 52-54 (1982)

Beiheft Zbl. Vet. Med.

RAETTIG, H

Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 2. Mitteilung: Experimente zur unspezifischen Schutzimpfung bei der Enteritis-Infektion der Maus

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 197, 368-388 (1965a)

RAETTIG, H.

Neue Modellversuche zur Infektabwehr des Darmes

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 198, 206-211 (1965b)

RAETTIG, H.

Die orale Impfung mit inaktivierten Mikroorganismen. Zehn Jahre Forschungsarbeit im Robert Koch-Institut

Bundesgesundhbl. 14, 141-147 (1971)

RAETTIG, H.

Phagozytose und das System immunkompetenter Zellen
Therapiewoche 45, 6756-6762 (1975)

RAETTIG, H.

Nonspecific immunity after local immunization
Dev. Biol. Stand. 33, 13-18 (1976)

RAETTIG, H.

Ein Enteritis-Oralimpfstoff aus 12 hitzeinaktivierten
Enterobakteriazeen. 1. Mitteilung: Theoretische und
epidemiologische Grundlagen
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 245, 287-300 (1979)

RAETTIG, H.

Ein Enteritis-Oralimpfstoff aus 12 hitzeinaktivierten
Enterobakteriazeen. 3. Mitteilung: Wirksamkeitsprüfung
im aktiven Mäuseschutzversuch
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 250, 511-520 (1981)

RAETTIG, H. u. A. MARQUARDSEN

Orale Immunisierung mit nicht vermehrungsfähigen Mikro-
organismen oder ihren Antigenen. 11. Mitteilung: Wirk-
samkeit von Kombinationsimpfstoffen aus Enterobakteria-
zeen-Vollantigen im Mäuseschutztest
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 215, 296-315 (1970)

RALOVICH, B. u. K. RAUSS

Das Schicksal der Maus-avirulenten Salmonellen bei
oralen Verabreichung
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 211, 315-334 (1969)

RANTALA, M.

Cultivation of a bacterial flora able to prevent the
colonization of *S. infantis* in the intestines of
broiler chickens, and its use
Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B 82, 75-80 (1974)

SEUNA, E.

Sensitivity of young chickens to *Salmonella typhimurium* var. Copenhagen and *S. infantis* infection and the preventive effect of cultured intestinal microflora

Avian Dis. 23, 392-400 (1979)

SEUNA, E.

Salmonella infections of broiler chickens in Finland: Epidemiological aspects and evaluation of anti-*Salmonella* treatments

Acad. Diss. Vet. med. Helsinki (1981)

SEUNA, E., C. SCHNEITZ u. E. NURMI

Combined therapy of *Salmonella* infection in chickens by antimicrobial agents followed by cultured cecal bacteria

Poultry Sc. 59, 1187-1192 (1980)

SMITH, B.P., F. HABASHA, M. REINA-GUERRA u. A.J. HARDY

Bovine Salmonellosis: Experimental production and characterization of the disease in calves, using oral challenge with *Salmonella typhimurium*

Am. J. Vet. Res. 40, 1510-1513 (1979)

SZIEGOLEIT, A.

Sekretorische Immunglobuline und Serumantikörper nach *Salmonella typhimurium*-Infektion der Maus

Z. Immunitätsforsch. 152, 244-259 (1976)

SZIEGOLEIT, A.

Humoral and cellular immune response in mice after infection with *Salmonella typhimurium*

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 247, 460-467 (1980)

SCHLEWINSKI, Elvira, N. GRABEN, Josefine FUNK, E. SAHM u. H. RAETTIG

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 13. Mitteilung: Persorption und Sekretion von Mikroorganismen im Tierversuch

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 218, 93-104 (1971)

SCHMIDT, C.

Unspezifische Steigerung der Phagozytoseaktivität von Peritonealmakrophagen nach oraler Gabe verschiedener Hefepräparationen

Diss. F.U. Berlin (1977)

SCHNEITZ, C., E. SEUNA u. A. RIZZO

The anaerobically cultured cecal flora of adult fowls that protects chickens from Salmonella infections

Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B 89, 109-116 (1981)

SCHULZE, H.-J.

Einfluß der oralen Immunisierung auf Phagozytosefähigkeit von Peritonealmakrophagen der Maus

Diss. F.U. Berlin (1972)

SCHULZE, H.-J., C. JASCHINSKY u. H. RAETTIG

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 17. Mitteilung: Zeitkinetik der unspezifischen Phagozytoseaktivität von Peritonealmakrophagen

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 225, 273-278 (1973)

TANAKA, Y. u. Y. KATSUBE

Infectivity of Salmonella typhimurium for mice in relation to fimbriae

Jap. J. vet. Sci. 40, 671-681 (1978)

TOMITA, T., E. BLUMENSTOCK u. S. KANEGASAKI

Phagocytic and chemiluminescent responses of mouse peritoneal macrophages to living and killed S. typhimurium and other bacteria

Infect. Immun. 32, 1242-1248 (1981)

VOLKHEIMER, G.

Persorption

in: Gastroenterologie und Stoffwechsel. Hrsg. von H. Bartelheimer, H. Kühn, V. Becker u. F. Stelzner, Band 2, Thieme, Stuttgart (1972)

WALDMAN, R.H., R. GRUNSPAN u. R. GANGULY

Oral immunization of mice with killed *S. typhimurium* vaccine

Infect. Immun. 6, 58-61 (1972)

WELLIVER, R.C. u. P.L. OGRA

Importance of local immunity in enteric infection

JAVMA 173, 560-564 (1978)

Lebenslauf

24. Juni 1955	geboren in Stuttgart als Sohn des Hans W. Wohlfarth und seiner Frau Annelies, geb. Faigle
1962 - 1966	Grundschule in Neubärental
1966 - 1974	Gymnasium in Pforzheim
30.05.1974	Abitur
01.07.1974 - 30.09.1975	Wehrdienst
01.10.1975 - 31.03.1976	Krankenpflegehelfer, Städtisches Krankenhaus in Pforzheim
01.04.1976	Beginn des Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
28.07.1981	Tierärztliche Prüfung
04.08.1981	Approbation als Tierarzt in Berlin
01.06.1979 - 30.09.1981	Studentische Hilfskraft am Institut für Mikrobiologie des Fachbereichs Veterinär- medizin der Freien Universität Berlin

Herrn Prof. Dr. Hellmann möchte ich herzlich für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung danken.

Mein Dank gilt ferner allen Institutsmitgliedern für die stets erwiesene Hilfsbereitschaft sowie Herrn Reinhard Meister aus der Fachrichtung Biometrie -

und außerdem Angela.

